Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-NewYork, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-NewYork, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Roehmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfundsechzigster Band.

Ausgegeben am 9. Juli 1914.





Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1914.

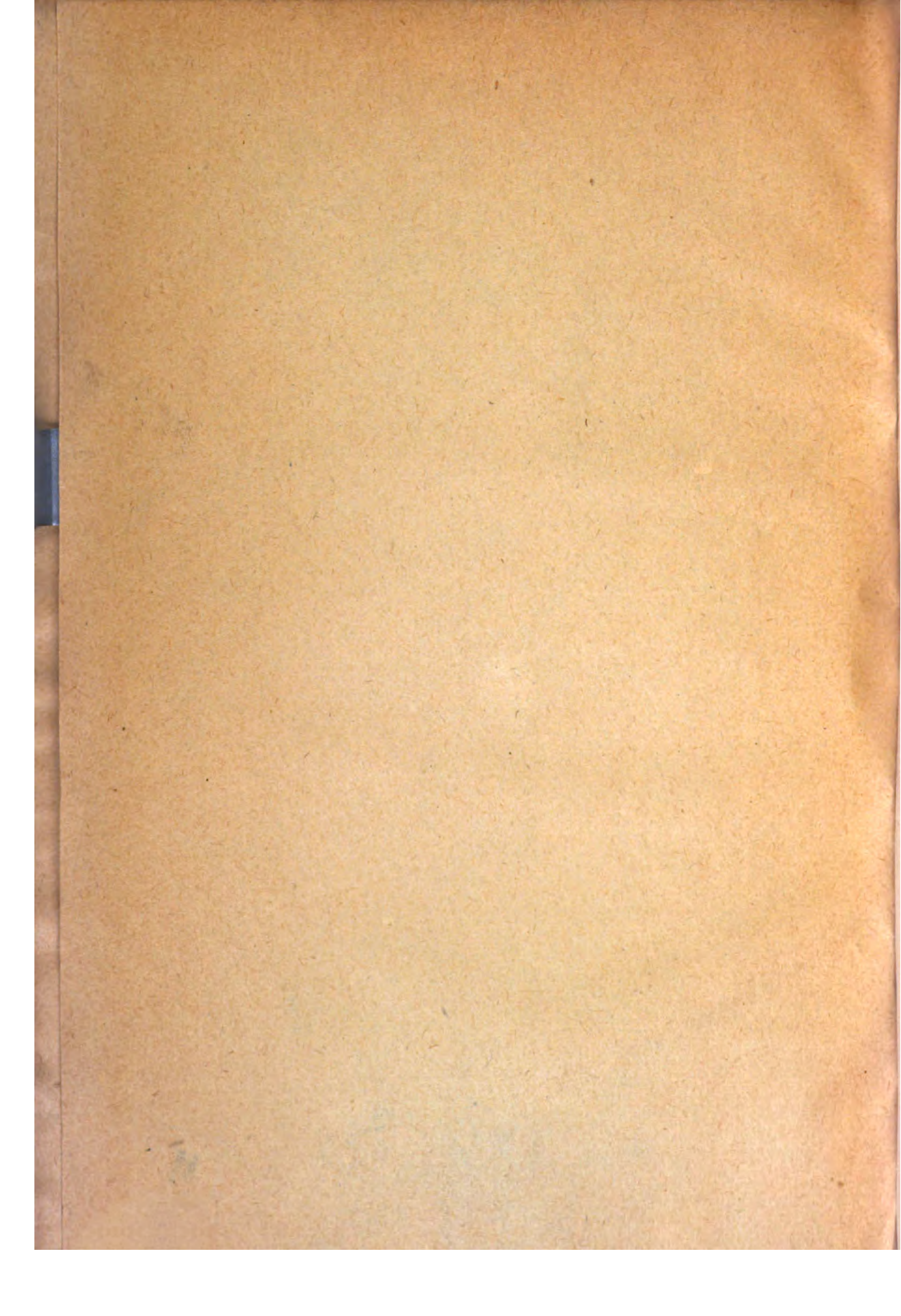





F.G. KOSTER BOEKBINDER







Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

E. Buchner-Würzburg, P. Ehrlich-Frankfurt a. M., F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, F. Tangl-Budapest, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, J. Bang-Lund, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, G. Galeotti-Neapel, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, R. Kobert-Rostock, M. Kumagawa-Tokio, F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, W. Loeb-Berlin, A. Loewy-Berlin, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Berlin, L. Michaelis-Berlin, J. Morgenroth-Berlin, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, F. Rochmann-Breslau, P. Rona-Berlin, S. Salaskin-St. Petersburg, N. Sieber-St. Petersburg, M. Siegfried-Leipzig, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Straßburg, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., H. v. Tappeiner-München, H. Thoms-Berlin, A. J. J. Vandevelde-Gent, W. Wiechowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Fünfundsechzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1914.





Druck von Oscar Brandstetter in Leipzig.

Inhaltsverzeichnis.

Die Wirkungsbedingungen des Pepsins.

Von

L. Michaelis und A. Mendelssohn.

(Aus dem biologischen Laboratorium des städtischen Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 17. Mai 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Bekanntlich besteht bisher noch wenig Klarheit über die gegenseitigen Beziehungen zwischen Pepsin, Lab und „Casease". Weder ist es sicher, ob Pepsin und Lab identisch sind, noch weiß man, ob die an die Labfällung sich allmählich anschließende Verdauung des Caseins eine direkte Fortsetzung der Labwirkung ist, ob sie einfach dem Pepsin zuzuschreiben ist oder ob sie schließlich noch durch ein besonderes, vom Pepsin zu trennendes, proteolytisches Ferment, die sog. Casease, hervorgerufen wird.

Wir glaubten der Lösung aller dieser Fragen dadurch näher zu kommen, daß wir zunächst das Wesen dieser „Casease" aufzuklären suchten. Vergegenwärtigen wir uns noch einmal, welche Eigenschaften man dieser Protease zuschreibt: Wenn man eine Caseinlösung mit irgendeinem Lab-Pepsinpräparat und einem löslichen Kalksalz bei neutraler oder nur sehr wenig saurer Reaktion zusammenbringt, so tritt zunächst die bekannte Labfällung des Caseins, die Käsebildung ein. Wartet man nun einige Zeit, so geht dieser Käse unter Bildung von Albumosen je nach den Bedingungen bald mehr, bald weniger reichlich in Lösung. Da alle unsere Lab- und Pepsinpräparate beide Wirkungen zeigen, so hätte es eigentlich von vornherein am nächsten gelegen, diese Verdauung des Käses auf das Pepsin zu beziehen. Was aber eine allgemeine Anerkennung dieser Auffassung verhinderte,

war der Umstand, daß Pepsin sonst nur in stark saurer Lösung wirksam ist, während wir es hier mit einer neutralen oder nur sehr wenig sauren Reaktion zu tun haben. Aus diesem Grunde wurde von einigen Autoren[1]) noch ein besonderes, bei schwach saurer Reaktion wirksames, proteolytisches Ferment, die Casease, angenommen.

Wir stellten uns deshalb die Aufgabe zu untersuchen, ob diese proteolytische Wirkung demnach dem Pepsin zugeschrieben werden kann oder ob die Annahme einer besonderen Casease notwendig ist. Bei der Lösung dieser Frage leiteten uns folgende theoretischen Überlegungen: Pepsin bedarf wie alle anderen Fermente einer ganz bestimmten Wasserstoffionenkonzentration der Lösung, um seine maximale Wirkung zu entfalten. Ändert man die optimale $[H^{\cdot}]$, so verringert sich diese Wirksamkeit nach einem früher von uns studierten Gesetz in quantitativ genau berechenbarer Weise. Auf Grund dieser Tatsachen galt es also festzustellen, ob die bei minimal saurer Reaktion stattfindende Verdauung des Käses wirklich größer ist, als dies durch die Gegenwart des Pepsins allein schon erklärt werden kann oder nicht. Zu diesem Zwecke mußte erst das Wirkungsoptimum des Pepsins, das früher[2]) schon bei einer $[H^{\cdot}] = 1{,}7 \cdot 10^{-2}$ gefunden war, noch einmal genau nachgeprüft und der Beweis erbracht werden, daß die Abhängigkeit der Pepsinwirkung von der $[H^{\cdot}]$ der Lösung denselben Gesetzen folgt, wie wir dies für Invertase[3]), Lipase[4]), Erepsin[5]), Trypsin[6]) usw. festgestellt haben.

---

[1]) Petry, Über die Einwirkung des Labferments auf Casein. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 8, 339, 1906. — Slowtzoff, Zur Frage der Labgerinnung der Milch. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 149, 1907. — Schmidt-Nielsen, Die Beziehungen des Molkeneiweißes zur Labgerinnung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 322, 1907.

[2]) Michaelis und Davidsohn, Die Bedeutung und die Messung der Magensaftacidität. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 8, 1910.

[3]) L. Michaelis und M. Menten, diese Zeitschr. 49, 333, 1913. — L. Michaelis und H. Davidsohn, diese Zeitschr. 35, 386, 1911.

[4]) Rona und Bien, diese Zeitschr. 59, 100, 1914.

[5]) Rona und Arnheim, diese Zeitschr. 57, 84, 1913.

[6]) L. Michaelis und H. Davidsohn, diese Zeitschr. 36, 280, 1911.

1. Reaktionsoptimum des Pepsins.

Die [H˙], bei der das Pepsin seine optimale, proteolytische Wirkung entfalten kann, wurde von S. P. L. Sörensen[1]) etwa $= 2{,}3 \cdot 10^{-2}$ und von Michaelis und Davidsohn[2]) fast damit übereinstimmend gleich $1{,}5 \cdot 10^{-2}$ gefunden. Wir stellten hierüber nochmalige Untersuchungen an, um einerseits unsere Methode zu kontrollieren, andererseits aber um auch den Einfluß noch anderer Ionenarten zu studieren. Bisher war die nötige Acidität fast immer nur durch Salzsäure hergestellt worden, es war aber noch nicht erwiesen, daß das Optimum wirklich nur allein von der [H˙] abhängt und daß auch bei Anwendung anderer Säuren genau dieselben Resultate gefunden werden. Wir stellten deshalb dieselbe [H˙] außer mit Salzsäure auch mit Weinsäure, Oxalsäure und Salpetersäure[3]) her und setzten in einer Versuchsserie auch Neutralsalze hinzu. Es ist sehr schwer, das Optimum ganz genau anzugeben, da sich die Wirksamkeit des Pepsins in einem bestimmten Bereich der [H˙] fast vollständig gleich verhält. Berücksichtigen wir diesen Umstand, so können wir sagen, daß es unabhängig von der Art der Säure und der Gegenwart von Salzen bei annähernd derselben [H˙] liegt.

Unsere Versuche stellten wir in folgender Weise an:

Wir wählten als Verdauungssubstrat das Edestin, denn das Casein schien hierfür zunächst deswegen ungeeignet zu sein, weil es vom Pepsinoptimum aus nach der weniger sauren Seite zu allmählich unlöslich zu werden beginnt. Für das Edestin war der isoelektrische Punkt zwar noch nicht genau festgelegt, aber jedenfalls näher am neutralen Gebiet als der des Caseins. Hierüber stellten wir zunächst noch genauere Untersuchungen an und fanden ihn, wie nachstehende Tabelle zeigt, nicht sehr scharf begrenzt bei ungefähr $2{,}5 \cdot 10^{-6}$, also noch um eine Zehnerpotenz niedriger als den des Caseins, und nur noch wenig mehr als eine Zehnerpotenz von der Neutralität entfernt[4]). Damit war das Edestin für die Verdauungsversuche bedeutend besser geeignet

[1]) S. P. L. Sörensen, Enzymstudien II, diese Zeitschr. 21, 131, 1909.

[2]) L. Michaelis und H. Davidsohn, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. 8, 1910.

[3]) H_2SO_4 ließ sich nicht verwenden, da sich Edestin so gut wie gar nicht darin löst und, wenn man es vorher in $^{n}/_{100}$-NaOH löst, nach Übersäuern mit H_2SO_4 ein Niederschlag entsteht, der auch im Überschuß der Säure nicht wieder in Lösung geht.

[4]) In einem anderen Edestinpräparat war von Rona und Michaelis (diese Zeitschr. 28, 193, 1910) das Fällungsoptimum $= 1{,}3 \cdot 10^{-7}$ bestimmt worden.

Isoelektrischer Punkt des Edestins.

$[H^{\cdot}] \cdot 10^6$ (berechnet) =	0,05	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,2	2,3	4,7	9,4	19	38	75	151
$^n/_3$-NaH_2PO_4	0,25	0,5	1	2	—	4	—	—	—	—	—	—	—	—
$^n/_3$-Na_2HPO_4	1	1	1	1	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—
$^n/_{10}$-CH_3COOH	—	—	—	—	0,25	—	0,5	1	2	4	8	—	—	—
n-CH_3COOH	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1,6	3,2	6,4
n-CH_3COONa	—	—	—	—	1	—	1	1	1	1	1	1	1	1
H_2O auf 10 ccm														
0,4%iges Edestin in $^n/_{100}$-HCl	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	0	(+)	+	(((×)))	(×)×	××	×××	×	×	×	(×)	((×))		
a) elektrometr. gemessene $[H^{\cdot}] \cdot 10^6$ =				0,37		0,93	1,78							
	0	(+)	+	++	(×)	×	×	××	×(×)	×	(×)	(((×)))	(+)	0
b) u. c) $[H^{\cdot}] \cdot 10^6$ =	0,052	0,14			0,88			2,71		9,61			77,6	173

Die verschiedenen Grade der Trübung sind durch (+), +, ++, die der Flockung durch (×), ×, ××, ××× angedeutet. 0 bedeutet klar.

als das Casein, und es war zu erwarten, daß es jedenfalls im größten Teile des in Frage kommenden Reaktionsgebietes die gleiche physikalische Beschaffenheit einer fast homogenen Lösung haben würde. Da es sich in NaOH besser löste als in HCl, so bereiteten wir unsere Lösung folgendermaßen: 2 g Edestin wurden 24 Stunden im Brutofen bei 37° mit 50 ccm $^n/_{10}$-NaOH digeriert, dann mit Wasser auf 490 ccm verdünnt und schließlich mit n-HCl auf 500 ccm aufgefüllt. Wir erhielten so eine 0,4%ige Edestinlösung in $^n/_{100}$-HCl (+ $^n/_{100}$-NaCl). Das NaCl hat sicherlich in dieser Konzentration noch keinen merklichen Einfluß auf unsere Versuche gehabt, da selbst, wie wir noch zeigen werden, bedeutend größere Mengen eine nur eben erkennbare Wirkung hervorriefen. Die $[H^{\cdot}]$ dieser Lösung wurde jedesmal elektrometrisch ermittelt und betrug im Durchschnitt $5{,}7 \cdot 10^{-3}$. Hiervon wurden zu jedem Versuche 6 oder 7 ccm genommen und durch die Zusätze (Salzsäure, Pepsin, Wasser, Salze — das Nähere ist aus den Tabellen zu ersehen —) auf 11 oder 12 ccm verdünnt. Zum Nachweise des unverdauten Eiweißes stumpften wir die Reaktion durch Zusatz von reichlich Natriumacetat in Substanz ab. Hierbei fiel das Edestin je nach dem Grade der Verdauung in Flocken oder in mehr oder weniger starker Trübung aus. Die Verhältnisse waren gut reproduzierbar und daher auch vergleichbar. Für jede Versuchsreihe wurde ein Kontrollröhrchen angesetzt und ihm von Zeit zu Zeit Proben entnommen, die in der geschilderten Weise auf ihren Eiweißgehalt geprüft wurden. Wenn die Verdauung so weit vorgeschritten war, daß die Trübung im Kontrollröhrchen anfing durchsichtig zu werden, wurden von jedem Röhrchen der Reihe ungefähr 6 ccm für die elektrometrische Bestimmung der $[H^{\cdot}]$ aufgehoben und der Rest gleichzeitig mit Natriumacetat ausgesalzt.

Auf diese Weise wurde zunächst das Optimum der Pepsinwirksamkeit nachgeprüft und bei einer durchschnittlichen $[H^{\cdot}]$ von $4 \cdot 10^{-2}$ gefunden, mit der Maßgabe, daß $2 \cdot 10^{-2}$ bzw.

$8 \cdot 10^{-2}$ in den meisten, wenn auch nicht in allen Fällen, und $1 \cdot 10^{-2}$ bzw. $16 \cdot 10^{-2}$ mit Sicherheit stets schlechtere Bedingungen darstellen.

Hierauf wurde die Wirkung verschiedener Salze studiert. Es ließ sich feststellen, daß die Alkalisalze der Salzsäure (NaCl, KCl, LiCl), besonders das NaCl, die Tendenz haben, das Optimum ein klein wenig nach der alkalischen Seite hin zu verschieben. Wir finden in einem Durchschnitt aus 14 Versuchen eine optimale [H˙] von $2{,}36 \cdot 10^{-2}$.

A. Pepsinoptimum (ohne Salze).

Edestin	6	6	6	6	6	6
n-HCl	0	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2
H_2O auf 10 ccm; dann 0,5 % Pepsin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
a)	+	(+)	(+)	+	++	+++
elektrometr. gemessene [H˙]·10² =		2,42	4,16			
b)	++	(+)	0	((+))	++	
[H˙]·10² =		2,17	4,45	7,18		
c)	++	(+)+	+	++	+++	
[H˙]·10² =			3,49			

B. Wirkung der Salze.

1. n-NaCl.

a) Zu obigen Gemischen je 1 ccm:					
α)	++	((+))	(+)	(+)	++
[H˙]·10² =			3,49	7,18	
β)	+	0	((+))	((+))	+
[H˙]·10² =		1,92	3,79		
γ)	×	(×)	××	××	××
[H˙]·10² =	0,28	2,01			
δ)	(+)+	(+)	+	+(+)	++
[H˙]·10² =		2,17			
b) 2 ccm: + Na-Acetat (schon vor Pepsinzusatz alles getrübt, ++) .	++	(+)	+	++	+++
[H˙]·10² =		1,72	3,50		
c) 3 ccm[1]):					
Nach 4 Minuten	(+)	0	(+)	+	++
„ 12 „	((+))	0	0	((+))	+
„ 35 „	((+))	0	0	0	((+))
[H˙]·10² =		2,17			

[1]) Schon beim Salzzusatz alles geflockt. Die Beobachtung bezieht sich auf die Verdauung des Niederschlages.

2. n-KCl.

a) 1 ccm:

α)	+++	++	+	++	(×)
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$	0,25		3,79		13,5
β)	×	+	(+)	++	×
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$		1,84	3,50		

b) 2 ccm:

	++	(+)	+	++	+++
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$	0,23	1,84	3,36	6,37	12,3

c) 3 ccm:

Gleich nach Pepsinzusatz	++	(+)	+	+(+)
Nach 3 Minuten . . .	×	0	(×)	×
„ 5 „ . . .	(×)	0	0	(×)
„ 12 „ . . .	((×))	0	0	0
Dann + Na-Acetat . .	+	(+)	+	(×)
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$		2,01	3,64	

3. n-LiCl.

a) 1 ccm:

[Ohne Pepsin alles klar, mit Pepsin	++	0	0	0	0]
+ Na-Acetat	+	+	((+))	(+)	+
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$			3,13		

b) 2 ccm:

	+	(+)	++	+(+)	+++
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$		1,81			

4. $^m/_2$-$CaCl_2$.

a) 1 ccm:

α) [Vor Pepsinzusatz . . .	0	0	0	((+))	+]
Nach 20 Min. ausgesalzt	+	(+)	(+)	+	++
β) Nach 12 Min. ausgesalzt	+	+	(+)	+	++
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$		2,25	3,71		

b) 2 ccm:

Vor Pepsinzusatz alles stark geflockt. Verdauung dieses Niederschlags:

Nach 15 Minuten	××	×	×	×	××
„ 25 „	××	×	(×)	×	××
„ 45 „	×	(×)	((×))	(×)	××
„ 65 „	×	((×))	0	(×)	(×)×
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$			3,94		

C. Versuche mit Weinsäure.

Edestin in n/5-Weinsäure	6	6	6	6	6
2 n-Weinsäure	0	1	2	4	8
H_2O auf 14 ccm					
0,5 % Pepsin	1	1	1	1	1
a)	×	((×))	(×)	×	××
[H˙]·10² =		3,19			
b)	+	0	(+)	(+)	+
[H˙]·10² =		3,46			
c)	+	(+)	0	(+)	+
[H˙]·10² =			4,18		
d)	+	(+)	0	(+)	+
[H˙]·10² =		3,06	4,96		
e)	++	(+)	0	(+)	+
[H˙]·10² =		3,22	5,42		

(c–e: Mit Lackmus Ammoniak und NaCl geprüft.)

D. Versuche mit Oxalsäure.

I. Edestin in Oxalsäure

+ n/100-$(COO)_2HNa$.	7	7	7	7	7	7
n-Oxalsäure	0	0,25	0,5	1	2	4
H_2O auf 11,5 ccm						
1 % Pepsin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
a)	+	(+)	+	+(+)	++	++++
[H˙]·10² =		1,67				
b)	(+)	0	(+)	+	++	+++
[H˙]·10² =		1,77	2,44			

II. 0,4 % Edestin in n/100-$(COOH)_2$.

0,4 % Edest. in n/100-$(COOH)_2$	6	6	6	6	6	6	6
n-Oxalsäure	0	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4
H_2O auf 13 ccm							
1 % Pepsin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
a) [Nach Pepsinzusatz .	×	+	(+)	0	0]		
Nach ¾ Std. + Sulfosalicylsäure . . .	××	×	(×)	(×)	+++		
[H˙]·10² =				2,44	4,60		
b) [Nach Pepsinzusatz .	×	(((×)))	(+)	0	0	0]	
α) + Sulfosalicylsäure nach 30 Min.	×	(×)	++	+(+)	+	+(+)	
β) + Na-Acetat nach 1 Std.	+	+	(+)	(+)	0	(+)	
[H˙]·10² =					4,48	6,98	

c) + Na-Acetat			(+)	(+)	+	++
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$			2,31	4,23		
d) + Na-Acetat		+	(+)	(+)	+	++
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$				4,40		
e) + Na-Acetat	++	+(+)	+	(+)	+	+++
f) + Na-Acetat		+	(+)	((+))	+	++
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$			2,41	4,56		

E. Versuche mit Salpetersäure.

0,4 % Edestin in $^n/_{100}$-NO_3H (+ $^n/_{100}$-NO_3Na)	6	6	6	6	6	6	6
n-NO_3H	0	0,2	0,4	0,8	1,6	3,2	6,4
H_2O auf 13 ccm							
1 % Pepsin	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Nach Zusatz der NO_3H . .	0	0	0	0	++++	×××	×××
a) Nach 15 Min. + Na-Acetat		0	(+)	++	×××		
Nach 35 Min. + Sulfosalicylsäure		+	++	+++	×××		
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$		1,90	3,52				
b) + Na-Acetat	++	(+)	+	+(+)	××		
$[H^{\cdot}] \cdot 10^2 =$	0,40	2,05					

Oft waren hierbei Röhrchen 2 und 3 gleichwertig, ebenso oft aber war die Verdauung im Röhrchen 2 deutlich besser als in 3, während wir bei den Versuchen ohne Salz nur einmal Röhrchen 2 und 3 für gleich erklären mußten, und im Gegensatz hierzu einmal sogar Nr. 3 und 4 nicht zu unterscheiden waren. Bei Zusatz größerer Salzmengen (2 bis 3 ccm) wurde die Lösung trübe bzw. flockte aus. Da aber diese Trübung oder Flockung sich in allen Röhrchen der Reihe fast gleich verhielt, so hatte man doch ein gleiches Verdauungsobjekt und konnte an dem allmählichen Aufhellen der Trübung oder an der Abnahme des Niederschlages das Fortschreiten des Prozesses direkt mit den Augen verfolgen. Auch auf diese Weise erhielten wir dieselben Resultate. Nicht zu verwerten waren dagegen die Versuche mit $CaCl_2$, Na_2SO_4 und $NaNO_3$. Diese Salze gaben alle mit dem Edestin eine Trübung oder einen Niederschlag, deren Stärke je nach der $[H^{\cdot}]$ verschieden war, so daß man die Verdauung nicht vergleichen konnte.

Nun stellten wir uns dieselben Aciditäten mit anderen Säuren her. Zunächst benutzten wir Weinsäure und fanden das Optimum in sehr guter Übereinstimmung mit der Salzsäure bei einer durchschnittlichen $[H^{\cdot}]$ von $4{,}18 \cdot 10^{-2}$.

Unsere Lösung mußten wir etwas anders als vorher bereiten, da nach dem Auflösen des Edestins in $^{n}/_{100}$-NaOH und nachherigem Ansäuern mit Weinsäure das entstehende weinsaure Natron die [H˙] so stark abstumpfte, daß wir selbst mit 2 n (gesättigter) Weinsäure nicht den nötigen Säuregrad erreichen konnten. Glücklicherweise löste sich das Edestin ganz gut in Weinsäure. 2 g wurden mit 30 ccm n-Weinsäure 24 Stunden im Brutschrank stehen gelassen. Nach dieser Zeit war alles gelöst. Die Lösung wurde nun mit Wasser auf das 5fache verdünnt, so daß eine 1,33%ige Edestinlösung in $^{n}/_{5}$-Weinsäure entstand, deren [H˙] = $1{,}4 \cdot 10^{-2}$ gemessen wurde. Die weitere Ansäuerung geschah mit 2 n-Weinsäure. Eine neue Schwierigkeit ergab sich nun dadurch, daß die größeren Mengen der Säure zum Abstumpfen der Reaktion beträchtlich mehr Natriumacetat verbrauchten, ganz besonders die saureren Röhrchen. So war die Beurteilung schwer, ob das unverdaute Edestin auch wirklich in allen Röhrchen gleichmäßig und maximal ausgefällt war. Wir bedienten uns deshalb zum Vergleich noch eines anderen Verfahrens. Die zu untersuchenden Proben wurden mit einem Tropfen Lackmuslösung und tropfenweise mit starkem (um die Verdünnung möglichst wenig zu verändern) Ammoniak so weit versetzt, bis der rosa Farbenton eben begann, zum violetten umzuschlagen. Nun waren wir sicher, in allen Röhrchen die gleiche Reaktion erzeugt zu haben, und sättigten sie dann mit NaCl in Substanz, wobei das Edestin ausfällt. Mit beiden Methoden erhielten wir das gleiche Resultat.

Weiter stellten wir Versuche mit Oxalsäure an. Wir hatten die Lösung[1]) ebenso wie die in Salzsäure bereitet, erhielten hier aber in nicht so guter Übereinstimmung wie bei der Weinsäure das Optimum bei einer [H˙] von durchschnittlich $1{,}7 \cdot 10^{-2}$. Diese Abweichung liegt gerade an der Grenze der Fehlerquellen und zeigt eine Parallelität zu den Ergebnissen der Salzversuche. Daß es sich hier tatsächlich um eine derartige Salzwirkung handelt, konnte erwiesen werden, wenn man das Edestin direkt in Oxalsäure löste. Dann ergab sich das Optimum bei einer [H˙] von durchschnittlich $4 \cdot 10^{-2}$.

Schließlich wurde auch noch Salpetersäure verwendet. Sie ergab dasselbe Resultat wie die Oxalsäure + Na-Oxalat. Da auch hier $NaNO_3$ ($^{n}/_{100}$) zugegen war, haben wir wohl die Berechtigung, auch hier die leichte Verschiebung nach der

---

[1]) 2 g Edestin wurden in 50 ccm $^{n}/_{10}$-NaOH gelöst und dann auf 500 ccm mit Wasser aufgefüllt. Zur Ansäuerung wurden 34 ccm n-Oxalsäure verbraucht, da das entstehende $(COONa)_2$ die Reaktion stark abstumpfte. Aus diesem Grunde waren in der Lösung sehr viel mehr $(COO)_2''$-Ionen als in einer reinen Oxalsäurelösung.

alkalischen Seite gegenüber den Ergebnissen mit Salzsäure und reiner Wein- und Oxalsäure als eine Salzwirkung aufzufassen.

2. Wirkungskurve des Pepsins bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration.

Mit derjenigen Genauigkeit, mit der sich die einzelnen Versuchspunkte bei den anderen Fermenten, z. B. bei der Invertase, auch selbst beim Trypsin darstellen ließen, konnten wir nicht arbeiten, da wir keine gute Methode für eine wirklich quantitative Bestimmung des Eiweißabbaues durch Pepsin besitzen, die gerade für unsere Fragestellung anwendbar wäre. Die Formoltitration nach Sörensen, die für Trypsin gut verwendbar ist, versagt hier, weil, wie der Autor selbst schon beschrieben hat, die Ausschläge zu gering sind. Der von uns gewählte, ziemlich primitive Weg ergibt deshalb keine streng quantitativen Resultate. Immerhin reicht die Reproduzierbarkeit und Genauigkeit aus, um wenigstens festzustellen, ob sich die Tatsachen den erwarteten Gesetzmäßigkeiten im Groben einfügen oder ob sich Widersprüche ergeben. Es zeigte sich nun, daß die Abhängigkeit der Pepsinwirkung von der $[H^{\cdot}]$ der Lösung sich ebenso als eine Dissoziationskurve darstellen läßt wie bei den anderen Fermenten. Dies wurde an zwei Objekten, am Edestin und Casein, in gleicher Weise ermittelt. Vor allem war die Wirksamkeit des Pepsins bei minimal saurer Reaktion, d. h. bei derjenigen $[H^{\cdot}]$, wo eine besondere „Casease“ am deutlichsten hätte in Erscheinung treten müssen, nicht größer, als sie sich aus dieser Dissoziationskurve theoretisch ableiten ließ. Wir kommen demnach zu dem Schluß, daß die Annahme einer besonderen Casease überflüssig ist und daß die Verdauung des Käses unter allen Umständen von demselben Ferment des Magensaftes hervorgerufen wird, das alle anderen Proteolysen im Magen bewirkt und als Pepsin bezeichnet wird. Die sog. Caseasewirkung ist also nichts anderes als der letzte Rest von Pepsinwirkung im schwach sauren Gebiet, der natürlich auch bei entsprechend größeren Pepsin- und Caseinmengen eine etwas stärkere Proteolyse verursacht, als dies in unseren Versuchen zutage tritt.

Tabellen für die Ermittlung der Kurvenpunkte[1]).

I. Edestin.

1.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,432 $3{,}70\cdot10^{-2}$	0,443 $3{,}61\cdot10^{-1}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
10	20	0,5
20	40	0,5
30	60	0,5
43	85	0,505
	Durchschnitt:	0,5

2.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,432 $3{,}70\cdot10^{-2}$	0,500 $3{,}16\cdot10^{-1}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
10	20	0,5
15	35	0,429
20	55	0,362
	Durchschnitt:	0,431

3.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,461 $3{,}47\cdot10^{-2}$	0,591 $2{,}55\cdot10^{-1}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
5	10	0,5
10	15	0,666
15	23	0,654
15	28	0,535
20	35	0,571
25	52	0,480
42	75	0,560
70	100	0,700
103	120	0,858
112	130	0,861
	Durchschnitt:	0,638

4.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,490 $3{,}23\cdot10^{-2}$	0,745 $1{,}80\cdot10^{-1}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
9	14	0,642
12	20	0,600
20	27	0,740
27	46	0,586
34	46	0,739
46	60	0,760
	Durchschnitt:	0,844

5.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,438 $3{,}65\cdot10^{-2}$	0,884 $1{,}31\cdot10^{-1}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
5	5	1,000
15	12	1,250
25	25	1,000
30	40	0,750
40	50	0,800
50	60	0,833
	Durchschnitt:	0,938

6.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,490 $3{,}23\cdot10^{-2}$	0,901 $1{,}58\cdot10^{-1}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
9	14	0,642
14	20	0,700
27	34	0,794
46	46	1,000
	Durchschnitt:	0,487

7.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,490 $3{,}23\cdot10^{-2}$	1,178 $6{,}63\cdot10^{-2}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
9	9	1,000
11,5	14	0,821
14	20	0,700
25	27	0,925
27	34	0,794
34	34	1,000
46	46	1,000
	Durchschnitt:	0,892

8.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,490 $3{,}23\cdot10^{-2}$	1,352 $4{,}45\cdot10^{-2}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
9	9	1
11	14	0,785
20	20	1
27	34	0,794
34	34	1
46	40	1,150
	Durchschnitt:	0,954

9.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
1,516 $3{,}05\cdot10^{-2}$	1,693 $2{,}03\cdot10^{-2}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
4	4	1
7	7	1
10	10	1
15	15	1
26	26	1
	Durchschnitt:	1

[1]) Spalte 1: Zeit der Kontrolle; Spalte 2: Zeit des Versuchs; Spalte 3: Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$ (φ Versuch, Φ Kontrolle). Die Zahlen unter „Kontrolle" und „Versuch" bedeuten den p_H und die [H˙] in jedem einzelnen Falle.

10.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
$\frac{1,516}{3,05 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{1,889}{1,29 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
7	7	1
10	10	1
15	15	1
26	26	1
	Durchschnitt:	1

11.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
$\frac{1,516}{3,05 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{2,114}{7,70 \cdot 10^{-3}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
10	10	1,000
15	15	1,000
22	26	0,846
	Durchschnitt:	0,942

12.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
$\frac{1,516}{3,05 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{2,219}{6,05 \cdot 10^{-3}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
10	10	1,000
13,5	15	0,900
22	26	0,845
	Durchschnitt:	0,915

13.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
$\frac{1,516}{3,05 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{2,461}{3,46 \cdot 10^{-3}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
10	10	1
12,5	15	0,833
22	26	0,846
	Durchschnitt:	0,893

14.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
$\frac{1,525}{2,99 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{2,574}{2,67 \cdot 10^{-3}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
6	8	0,750
9	12	0,750
12	18	0,660
16	25	0,640
	Durchschnitt:	0,700

15.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis	
$\frac{1,525}{2,99 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{2,820}{1,52 \cdot 10^{-3}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$	
6	8	0,750	
8	12	0,667	} 0,750
10	12	0,833	
12	16	0,750	} 0,675
12	20	0,600	
18	25	0,720	} 0,640
14	25	0,560	
	Durchschnitt:	0,688	

16.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis	
$\frac{1,432}{3,70 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{3,032}{9,30 \cdot 10^{-4}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$	
4,5	12	0,375	
6	18	0,333	} 0,377
11	26	0,423	
15	38	0,394	
18	52	0,346	} 0,358
21	62	0,333	
26	81	0,321	} 0,311
32	106	0,302	
	Durchschnitt:	0,354	

17.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis
$\frac{1,440}{3,63 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{3,117}{7,65 \cdot 10^{-4}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$
6	12	0,50
9	24	0,37
9	29	0,31
12	35	0,34
12	40	0,30
	Durchschnitt:	0,464

18.

Kontrolle	Versuch	Verhältnis	
$\frac{1,432}{3,70 \cdot 10^{-2}}$	$\frac{3,225}{5,96 \cdot 10^{-4}}$	$\frac{\varphi}{\Phi}$	
3	30	0,100	} 0,103
6	52—62?	0,115—0,097: 0,106	
11	52—62?	0,212—0,177:	0,194
		Durchschnitt:	0,133

19.

Kontrolle $\frac{1,379}{4,2\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{3,377}{4,2\cdot 10^{-4}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
< 15	> 240	< 0,062

Durchschnitt: < 0,062

20.

Kontrolle $\frac{1,525}{2,99\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{3,360}{4,16\cdot 10^{-4}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
2	72	0,028

Durchschnitt: 0,028

21.

Kontrolle $\frac{1,432}{3,70\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{3,694}{3,02\cdot 10^{-4}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
< 5	> 62	< 0,08

Durchschnitt: < 0,08

II. Casein.

1.

Kontrolle $\frac{1,492}{3,22\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{277}{3,74\cdot 10^{-1}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
60	120	0,5

Durchschnitt: 0,5

2.

Kontrolle $\frac{1,492}{3,22\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{0,864}{1,37\cdot 10^{-1}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
18	29	0,621
29	42	0,690
35	60	0,583
60	87	0,690

Durchschnitt: 0,646

3.

Kontrolle $\frac{1,476}{3,34\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{2,503}{3,14\cdot 10^{-3}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
18	23	0,783
20	28	0,714
23	36	0,639
32	44	0,727
37	53	0,700
40	64	0,625
50	74	0,676

Durchschnitt: 0,695

4.

Kontrolle $\frac{1,476}{3,34\cdot 10^{-2}}$	Versuch $\frac{2,974}{1,06\cdot 10^{-3}}$	Verhältnis $\frac{\varphi}{\Phi}$
7	10	0,700
13	20	0,650
16	38	0,421
18	38	0,474
20	45	0,444
23	56	0,411

Durchschnitt: 0540

Für die quantitativen Proben benutzten wir wieder die salzsaure Edestinlösung und setzten sie in etwas größeren Mengen an. Als Vergleichsobjekt wurde jedesmal die Verdauung bei optimaler [H˙] verwandt. Von Zeit zu Zeit wurden kleine Mengen entnommen und mit Na-Acetat unterbrochen, und es wurde verglichen, in welcher Zeit in dem einen und in dem anderen Falle gleiche Stadien erreicht waren. Das reziproke Verhältnis der Zeiten (bezogen auf das Optimum) wurde dann auf der Ordinate, der log [H˙] auf der Abszisse abgetragen. So erhielten wir die Versuchspunkte der Kurve. Zeichnen wir uns hierzu noch die für einen logarithmischen Parameter von — 2,8 berechnete Dissoziationskurve ein, so sehen wir, daß diese sich dem Bilde am besten einfügt, wenn wir die maximale Pepsinwirkung gleich 0,9 setzen. Dies zeigt uns, daß die aus früheren Arbeiten [1]) bekannte Zerstörung des Pepsins durch die Säure schon beginnt, bevor das Maximum der proteolytisch wirksamen, einwertigen Pepsinkationen erreicht ist.

[1]) Michaelis und Davidsohn, l. c.

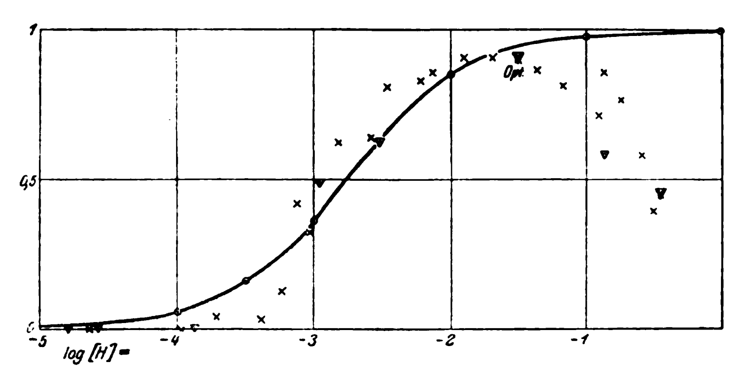


Fig. 1.

Abszisse: log [H˙].
Ordinate: relative Wirksamkeit des Pepsins.
× Beobachtungspunkte mit Edestin.
▼ „ „ Casein.
⊙ Theoretisch konstruierte Punkte der Dissoziationskurve.

Betrachten wir zunächst nur den aufsteigenden Schenkel, so ist die proteolytisch wirksame Molekülart hier entweder ein Säurerest oder eine Base. Aus früher angestellten Überführungsversuchen [1]) geht hervor, daß wir es hier mit einer Base zu tun haben, bei der also die freien Ionen (Pepsinkationen) der wirksame Bestandteil sind. Der Abfall der Punkte oberhalb eines log [H˙] von — 1,5 beruht, wie schon erwähnt, jedenfalls einerseits auf der Zerstörung des Pepsins durch die Säure und andererseits, wohl in ursächlichem Zusammenhang hiermit, in der Bildung zweiwertiger Pepsinkationen.

Nachdem so die bei der Pepsinwirkung bestehenden Gesetzmäßigkeiten festgelegt waren, wurden noch einige Stichproben mit dem Casein gemacht, das sich aus den angeführten Gründen an sich schlechter zu diesen Untersuchungen eignet. Trotz der Schwierigkeiten aber erhielten wir genau dieselben Resultate wie beim Edestin.

Die salzsaure Caseinlösung wurde ebenso bereitet, wie früher beim Edestin beschrieben. Dagegen konnten wir zum Nachweise des unverdauten Eiweißes das Natriumacetat nicht verwenden, da hierdurch leicht der isoelektrische Punkt des Caseins zu weit überschritten wurde und es dann wieder in Lösung ging. Als geeignet erwies sich jedoch die Sulfosalicylsäure. Wir fanden so das Optimum wieder bei einer [H˙] von $3{,}0 \cdot 10^{-2}$. Bei den quantitativen Proben war allerdings die schon

[1]) Michaelis und Davidsohn, Die isoelektrische Konstante des Pepsins. Diese Zeitschr. 28, 1, 1910.

vorher befürchtete Trübung bzw. Flockung der Lösung durch die veränderte [H˙] recht störend. Aber indem wir dennoch bei den getrübten Röhrchen Sulfosalicylsäure verwandten, bei den geflockten aber warteten, bis der Niederschlag verschwunden war, und diese Zeit mit derjenigen verglichen, die die Kontrolle gebrauchte, bis sich kein Eiweiß mehr nachweisen ließ, erhielten wir, soweit man es überhaupt bei dieser nicht sehr genauen Methode erwarten konnte, eine recht gute Übereinstimmung mit dem Edestin. Auch eine Prüfung bei $[H^{\cdot}] = 1{,}6 \cdot 10^{-5}$, $2{,}6 \cdot 10^{-5}$ und $1{,}4 \cdot 10^{-4}$ ergab dieselben, äußerst geringfügigen Spuren von Pepsinwirkung wie vorher. Dies ist deshalb von besonderer Bedeutung, weil man bei dem entsprechenden Befund mit Edestin den Einwand machen könnte, die bei niederer Acidität wirksame „Casease" wirke spezifisch nur auf Casein, nicht auf andere Eiweißkörper.

Fassen wir die Resultate unserer Untersuchungen zusammen, so ergibt sich:

1. das Optimum der Pepsinwirkung bei einer [H˙] von $4 \cdot 10^{-2}$, und zwar in erster Linie von dieser abhängig;
2. eine minimale Verschiebung dieses Optimums nach der weniger sauren Seite zu durch Salze;
3. daß das Pepsin ein Ferment ist, das den Dissociationsgesetzen folgt und dessen freie Kationen der proteolytisch wirksame Bestandteil sind.

Da diese Wirksamkeit in ihren letzten Ausläufern bis 10^{-5} herab reicht, da außerdem von hier aus nach der weniger sauren Seite zu die fällende Wirkung („Labung") ansteigt und das Pepsin dann anodisch wandert, so sehen wir hierin einen weiteren Grund zu der Annahme, daß die Labwirkung dem Pepsin als Anion zuzuschreiben ist[1]).

4. Daß es eine besondere, bei minimal saurer Reaktion wirksame Casease nicht gibt.

Diese Untersuchungen beziehen sich bisher nur auf das Pepsin des erwachsenen Schweines. Weitere Ermittelungen werden noch festzustellen haben, ob die Verhältnisse beim neugeborenen Tier nicht anders liegen. Nach unseren früheren Befunden, daß das Lab des erwachsenen Schweinemagens und des Kälbermagens sich trotz des behaupteten Unterschieds ganz gleich verhält, macht es uns von vornherein etwas unwahrscheinlich, daß überhaupt prinzipielle Unterschiede hier bestehen.

[1]) L. Michaelis, Überführungsversuche mit Fermenten. Diese Zeitschr. 17, 231, 1909.

Über den Energieumsatz bei der Marscharbeit.

II. Marschversuche auf ansteigender Bahn (experiment. Teil).

Von

Ernst Brezina und Walter Kolmer.

(Aus dem Physiologischen Institut der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien.)

(Eingegangen am 19. Mai 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Gelegentlich der Untersuchungen über das Verhalten des Menschen bei Ruhe und Arbeit im Hochgebirge hatten Durig[1]) und seine Mitarbeiter auch begonnen der Frage näher zu treten, wie sich der Mensch bei Marscharbeit unter verschiedenen Bedingungen verhält. Was die Marscharbeit auf ebener Bahn bei gleicher Belastung betrifft, war diese Frage damals schon gelöst und von Reichel ein rechnerischer Ausdruck für die hierbei herrschenden Verhältnisse gefunden worden, wogegen das Studium des Verhaltens des Umsatzes bei Variierung der übrigen Bedingungen des Marsches dort noch nicht zum Abschluß gekommen war, was ja aus der von Durig dort vorgenommenen Zusammenstellung der von ihm und seinen Mitarbeitern sowie von früheren Autoren durchgeführten Versuche erhellt.

In Durchführung des von Durig gefaßten Planes, die Gesetze des Umsatzes bei der Marscharbeit überhaupt unter möglichst ausgiebiger Variierung aller dabei in Frage kommenden Bedingungen zu studieren, haben die Verfasser zunächst den Einfluß der Last auf den Umsatz beim Marsche in einer größeren bereits publizierten Versuchsreihe untersucht; für die erhaltenen Resultate wurde dann von Brezina und Reichel[2]) ein allgemeiner rechnerischer Ausdruck gegeben.

Die nunmehr folgenden Versuche bilden die weitere Fortsetzung des genannten Versuchsplanes. Nachdem die Bedingungen variiert waren, unter denen der Marsch auf ebener

[1]) Denkschriften der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften 86.

[2]) Diese Zeitschr. 63.

Bahn erfolgen kann, nämlich Geschwindigkeit und Last, galt es nunmehr, auch den dritten bei der Marscharbeit in Frage kommenden Faktor, die Bahnneigung, zu wechseln, und zwar unter gleichzeitiger Variierung der beiden erstgenannten Bedingungen.

Versuche über den Umsatz beim Marsch auf steigender Bahn liegen bisher in nicht geringer Zahl vor[1]). Katzenstein, A. Loewy, J. Loewy, Bürgi, Zuntz, Frentzel und Reach, Durig und seine Mitarbeiter haben zahlreiche derartige Beobachtungen angestellt, und zwar größtenteils auf freier, mitunter auch auf der Tretbahn, überdies liegen noch Versuche von Zuntz, Lehmann und Hagemann[2]) am Pferde vor, von Zuntz[3]) solche am Hunde.

Fast alle obigen Versuche sind mit der von Zuntz ausgearbeiteten Technik durchgeführt. Hierzu kommen noch Versuche in der Respirationskammer von Sondén und Tigerstedt[4]).

Wenn trotz der nicht geringen Zahl der angestellten Versuche hier noch eine Lücke auszufüllen ist, so liegt der Grund darin, daß die Versuche der Autoren nicht an einer Person unter systematischer Variierung der in Frage kommenden Versuchsbedingungen, ferner zum Teil auf freier, z. T. auf der Tretbahn angestellt sind, was ein einheitliches Überblicken und Bewerten der Versuchsresultate erschwert; außerdem wurden auch die Versuche auf freier Bahn auf Wegen von ganz verschiedener Beschaffenheit, z. B. gelegentlich auf dem Damme einer Bergbahn, ausgeführt.

Aus naheliegenden Gründen waren solche systematische Versuche auf freier Bahn nicht durchführbar. Nur eine mechanisch angetriebene Tretbahn gestattete es, alle in Betracht kommenden Bedingungen, namentlich die Steigung entsprechend systematisch zu variieren, wobei auch die exakte Einhaltung der gewünschten Versuchsbedingungen stets gesichert war. So verwendeten wir denn den im Besitze der Landwirtschaftlichen Versuchsanstalt der k. k. Hochschule für Bodenkultur in Wien zu Lang-Enzersdorf bei Wien befindlichen Tretgöppel von der Firma

---

[1]) Literatur siehe Tabelle IV der folgenden Abhandlung von Brezina und Reichel.

[2]) P. Parey, Berlin 1889.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. 95, 1913.

[4]) Skandinav. Arch. f. Physiol. 1895, 186.

Fortin frères, Montereau, für dessen freundliche Überlassung wir Herrn Professor Rezek zu besonderem Dank verpflichtet sind.

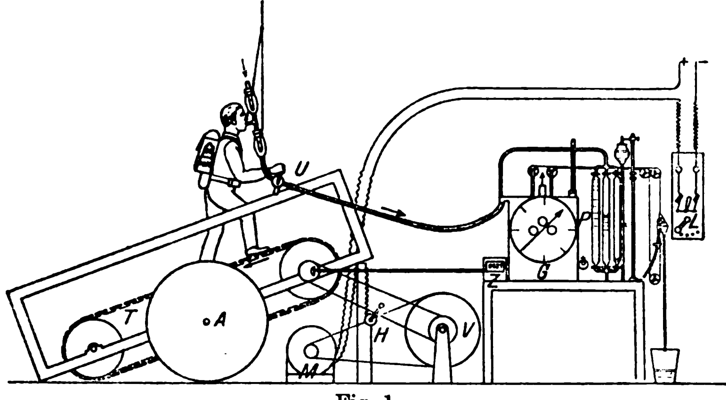


Fig. 1.

Der Apparat *T* (siehe nebenstehende Abbildung) wurde durch einen 3pferdigen Motor *M* angetrieben, die Übertragung der Bewegung erfolgte durch ein Vorgelege, das aus Riemenscheiben von verschiedenem Durchmesser bestand. Die Versuchsperson marschierte auf der Tretbahn an Ort und Stelle in dem von deren Geschwindigkeit vorgeschriebenen Tempo.

Die Variation der Geschwindigkeit wurde durch Variieren in der Kombination der Riemenscheiben des Vorgeleges *V* erzielt, ihre Konstanz durch einen Regulator gewährleistet, ihre Bestimmung in jedem Einzelversuch wurde durch Bestimmung des während einer bestimmten Zeit zurückgelegten Weges mittels eines Tourenzählers *Z* ermöglicht, der von der registrierenden Person abgelesen wurde (s. unten). Die geringste Geschwindigkeit betrug etwa 10 m pro Minute, die höchste 56 m. Höhere Geschwindigkeiten verboten sich mit Rücksicht auf die Konstruktion, da sonst die Gefahr eines Zerreißens der Bahn bestand. Höhere Geschwindigkeiten wären übrigens für die Versuchsperson nur bei den schwächeren Bahnneigungen in Betracht gekommen. Oberhalb $20^0/_0$ Neigung lag die Höchstleistung der Versuchsperson selbst im unbelasteten Zustande innerhalb dieser Geschwindigkeit.

Die Variation der Tretbahnneigung war dadurch zu erreichen, daß der Apparat um eine etwas vor dem Schwerpunkt gelegene Achse drehbar montiert war. Wurde er sonst

nicht gestützt, so ruhte demnach das hintere Ende auf dem Erdboden auf, die dadurch sich einstellende natürliche Neigung der Bahn betrug 27,9 %. Schwächere Neigungen (bis 0,0) wurden dadurch hergestellt, daß die beiden Endpunkte durch verschieden hohe Unterlagen *H* gestützt wurden, während für stärkere das Erdreich unter dem hinteren Ende abgegraben werden mußte, um den Göppel entsprechend steil stellen zu können.

Der gewünschte Neigungswinkel konnte, so oft eine Änderung der Geschwindigkeit durch Auswechseln der Vorgelegescheiben das Verschieben des Apparates nötig machte, stets ungefähr wieder hergestellt werden, die kleinen Verschiedenheiten taten der Genauigkeit der Rechnung keinen Eintrag, da der Winkel immer wieder nachgemessen und in die Rechnung der neue Wert eingetragen wurde. Auch kleine Verschiedenheiten der Geschwindigkeit kamen unbeabsichtigt durch verschiedene Spannung des Treibriemens und kleine Stromschwankungen zustande.

Die Variation der Belastung erfolgte in gleicher Weise wie bei unseren früheren Versuchen, indem die Versuchsperson einen Armeetornister mit Überschwung und Patronentaschen umhing, der dann mit den nötigen Gewichten gefüllt wurde.

Die ganze Apparatur (mit Vorgelege, Motor, Gasuhr) war in einem ad hoc gezimmerten Schuppen im Hofe der Hochschule aufgestellt. Die Luft hatte durch die zum Teil breiten Fugen zwischen den Brettern leicht Zutritt, so daß ihre Beschaffenheit der der Freiluft entsprach. Da die Versuche zu den verschiedensten Jahreszeiten ausgeführt wurden, waren ungleiche Temperaturen, und zwar solche zwischen 0^{0} und 22^{0} nicht zu vermeiden, ein Umstand, der vernachlässigt werden darf, da der Umsatz, wie feststeht, von der Außentemperatur in weiten Grenzen unabhängig ist. Auch bei niederer Temperatur trat trotz der stets gleichen leichten Kleidung infolge der während der Versuche nötigen Muskelanstrengung und Wärmeproduktion bei der Versuchsperson niemals Muskelzittern auf.

Wie bei den früheren Versuchen atmete die Versuchsperson mittels eines Kautschukmundstückes durch ein T-Stück aus Kautschuk, an das die üblichen beiden Fischblasenventile mit kugelig erweitertem Außenrohr angeschlossen waren, das Exspirationsventil leitete den ganzen Strom der Ausatmungsluft

durch einen 2 m langen, durch eine Drahtspirale offengehaltenen Schlauch von 2,5 cm Durchmesser zur Gasuhr *G*, an der die übliche Vorrichtung zur proportionalen Gasentnahme *P* angebracht war. In den Schlauch war ein Wechselhahn eingeschaltet, der es ermöglichte, die Exspirationsluft nach Bedarf in die Gasuhr oder nach außen fließen zu lassen. Durch Aichungen des k. k. Aichamtes sowie durch vergleichende Versuche war festgestellt, daß die Angaben dieser Gasuhr nicht allein richtig waren, sondern daß die bei den Versuchen herrschenden Bedingungen (Größe des Widerstandes des Schlauches, Gasuhrwiderstand) nicht etwa durch Änderungen der Versuchstechnik Ursache von Differenzen in dem Energieverbrauch waren. Die Ventile wurden an jedem Versuchstage auf Dichtigkeit geprüft und bewährten sich vorzüglich. Der ganze Ventilapparat hing, an Drähten und Bändern befestigt, der Versuchsperson in den Mund.

Was die physische Beschaffenheit der Versuchsperson (wie in den früheren Versuchen Brezina) betrifft, wäre zu erwähnen, daß dieselbe zur Zeit der Versuche etwa 38 Jahre alt, von mittelkräftigem Körperbau, ihrer Größe von 172 cm etwa entsprechendem Gewicht und für einen Nicht-Alpenbewohner von leidlicher Trainiertheit im Steigen war. Die Versuche wurden stets in den Vormittagsstunden angestellt, etwa $1^1/_2$ Stunden vor ihrem Beginn hatte die Versuchsperson eine Schale Tee mit etwas Zucker als Frühstück zu sich genommen, so daß die Verdauungsarbeit wohl berechtigtermaßen vernachlässigt werden kann.

Durch eine Reihe von Kontrollversuchen auf ebener Tretbahn wurde konstatiert, daß der Umsatz sich bei gleicher Geschwindigkeit und Belastung in denselben Grenzen bewegt, wie auf freier Bahn. Weitere Kontrollversuche zeigten, daß der von der kleinen Gasuhr (frühere Versuche) angezeigte Gasumsatz derselbe ist, wie der bei Verwendung der großen (Wasser-) Gasuhr stattfindende, daß mithin etwaige Unterschiede in den durch diese Apparate hervorgerufenen Atmungswiderständen unwesentlich waren.

Der Verlauf der einzelnen Versuche hat sich folgendermaßen gestaltet: Die Versuchsperson betrat, nachdem ihr Gewicht samt Kleidern bestimmt war, unbelastet die Tretbahn und wurde dort von der registrierenden Person in der nötigen Weise belastet. Diese setzte darauf durch Einschalten des elektrischen Stromes die Tretbahn in Bewegung, die Versuchs-

person begann demnach zu marschieren (Vormarsch). Nach einigen Minuten nahm auf das Kommando „Atmen“ die Versuchsperson das Mundstück in den Mund und verschloß der Luft den Weg durch die Nase vermittels einer Nasenklemme. Die registrierende Person spülte nach einigen weiteren Minuten das ganze System von Lufträumen mit der Exspirationsluft der Versuchsperson durch (Spülmarsch) und gab hierauf das Kommando „Ausschalten“, worauf die Versuchsperson den Wechselhahn so stellte, daß die Gasuhr gegen die Außenluft abgesperrt war und die Versuchsperson nach außen atmete. Nun wurde der Stand der Gasuhr und der Temperatur in deren Innerem abgelesen und hierauf gewartet, bis in dem Tourenzähler eine neue Zehnereinheit einschnappte. In diesem Augenblick gab die registrierende Person das Kommando „Los“, worauf die inzwischen weiter marschierende Versuchsperson den Wechselhahn wieder auf die Gasuhr stellte. Gleichzeitig ließ die registrierende Person die Stoppuhr laufen, registrierte den Stand des Tourenzählers und brachte die proportionale Entnahme der Luftprobe für die Gasanalyse in Gang. Sobald das für diesen Zweck bestimmte Proberohr mit Luft gefüllt war, gab die registrierende Person das Kommando „Halt“, das von der Versuchsperson mit Herausfallenlassen des Kautschukmundstückes aus dem Munde beantwortet wurde. Zugleich stoppte die registrierende Person die Uhr, notierte den Stand des Tourenzählers, stellte den elektrischen Strom bei *L* ab und registrierte schließlich den Stand der Gasuhr, deren Stand sich ja vom Augenblick „Halt“ nicht mehr geändert hatte, da sofort nach diesem Kommando die Versuchsperson aufhörte in die Gasuhr zu atmen. Sämtliche Versuche sind in den folgenden Generaltabellen mit den durch die Messungen und Analysen direkt gewonnenen Resultaten zur Darstellung gebracht. Die Gasvolumina verstehen sich für 0^{0} und 760 mm Quecksilber. Da der Umsatz nach der von Zuntz angegebenen Methode berechnet wurde, war es auch nötig, den respiratorischen Quotienten (R.Q.) für jeden Versuch anzugeben. Ferner wurde die Größe der Steigarbeit in Meterkilogramm, die Menge der umgesetzten Calorien nach Abzug des Ruhewertes und die pro Meter Bahn und Kilogramm fortbewegter Last umgesetzten Calorien angegeben. Sämtliche von der Zeit abhängige Größen gelten für eine Minute.

Generaltabellen.

Tabelle I.

Versuche auf ebener Tretbahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
116	—	70,5	31,0	11,72	393,8	441,8	0,891	1088	—	0,50
301	—	72,0	50,1	12,26	541,4	639,0	0,847	2021	—	0,56
302	—	72,0	51,7	12,20	520,2	642,9	0,809	2011	—	0,54
303	—	72,0	51,7	11,97	503,5	638,0	0,789	1972	—	0,53
255	—	84,0	55,2	13,80	588,7	706,7	0,833	2338	—	0,50
256	—	84,0	51,4	12,70	545,3	661,8	0,824	2115	—	0,49
257	—	84,0	54,2	13,90	558,0	678,0	0,823	2192	—	0,48
258	—	84,0	54,5	13,80	554,7	681,5	0,814	2197	—	0,48
259	—	84,0	54,7	14,20	560,0	682,4	0,820	2206	—	0,48
300	—	83,0	52,9	13,22	633,9	787,0	0,805	2458	—	0,56
307	—	93,0	51,2	12,03	523,8	638,0	0,824	2000	—	0,42
308	—	93,0	51,2	14,05	620,0	745,2	0,832	2524	—	0,53
309	—	93,0	49,4	13,22	602,8	758,8	0,794	2555	—	0,55
310	—	93,0	52,4	13,78	578,8	748,8	0,773	2488	—	0,51
121	—	104,0	30,1	13,63	493,2	552,9	0,823	1587	—	0,51

Tabelle II.

Versuche bei 4,7% geneigter Bahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
221	4,7	71,5	21,8	11,24	411,4	509,2	0,808	1367	73,2	0,88
227	4,7	71,5	30,8	12,56	483,6	564,0	0,857	1665	103,5	0,76
228	4,7	71,5	31,5	12,37	463,9	552,9	0,839	1598	106,0	0,71
237	4,7	71,5	54,5	17,10	755,6	834,3	0,906	3032	183,2	0,78
238	4,7	71,5	56,8	15,80	692,2	809,2	0,855	2857	190,9	0,79
222	4,7	82,5	23,3	11,82	431,6	528,5	0,817	1466	86,7	0,80
223	4,7	82,5	22,4	11,86	433,7	530,3	0,799	1522	87,0	0,82
229	4,7	82,5	31,5	13,20	505,6	609,8	0,829	1867	122,3	0,72
230	4,7	82,5	31,7	13,03	515,9	624,0	0,827	1934	123,1	0,74
239	4,7	82,5	52,2	16,48	682,2	802,5	0,850	2821	202,2	0,66
240	4,7	82,5	56,2	18,19	689,0	854,8	0,825	3047	218,0	0,66
224	4,7	92,5	22,6	13,08	474,9	578,2	0,821	1708	98,2	0,82
231	4,7	92,5	31,3	14,46	572,8	666,8	0,859	2167	136,3	0,75
232	4,7	92,5	31,5	14,58	573,1	660,6	0,868	2144	137,0	0,74
225	4,7	102,5	22,5	14,54	532,4	639,9	0,832	2015	108,6	0,87
233	4,7	102,5	30,8	16,20	599,5	709,7	0,845	2364	148,4	0,75
234	4,7	102,5	30,9	16,12	582,4	672,8	0,866	2202	148,8	0,70
226	4,7	112,5	22,6	16,15	591,2	717,2	0,824	2382	119,6	0,94
235	4,7	112,5	31,3	18,10	664,2	772,8	0,859	2684	165,3	0,76
236	4,7	112,5	31,6	18,84	689,6	795,1	0,867	2800	167,0	0,79

Tabelle III.

Versuche bei 8,4 bis 10,5% geneigter Bahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
114	9,7	70,5	12,1	11,72	380,4	449,5	0,846	1101	82,8	1,29
111	9,7	70,5	12,6	11,31	359,2	439,3	0,817	1036	86,4	1,17
209	9,7	71,5	22,7	12,45	479,5	585,5	0,819	1741	157,5	1,07
210	9,7	71,5	23,3	12,54	474,0	593,1	0,804	1764	158,2	1,08
92	9,0	70,6	32,0	15,66	512,7	612,7	0,837	1887	203,5	0,84
93	9,0	70,6	32,4	15,19	505,1	599,2	0,843	1825	205,7	0,80
314	9,4	71,0	44,1	17,65	773,2	1015,0	0,762	3743	294,4	1,20
315	9,4	71,0	44,3	17,64	765,4	978,8	0,782	3598	295,9	1,14
211	9,7	82,5	22,4	13,56	512,5	627,7	0,816	1943	178,9	1,05
109	10,0	81,5	22,8	14,91	478,9	584,5	0,819	1737	186,1	0,93
100	9,3	81,6	31,5	18,15	687,1	795,8	0,863	2801	239,1	1,09
94	9,0	81,6	31,7	16,34	565,2	653,2	0,865	2106	233,1	0,82
205	8,4	82,5	31,0	15,59	604,9	743,7	0,813	2499	215,0	0,98
316	9,4	82,0	44,2	19,57	822,1	1048,0	0,782	3939	340,5	1,09
317	9,8	82,0	44,7	19,89	847,2	1060,0	0,795	4000	344,3	1,09
106	10,0	91,5	23,2	15,57	485,1	569,0	0,853	1686	212,3	0,80
212	9,7	92,5	22,3	14,63	547,0	667,0	0,820	2136	200,4	1,03
95	9,3	91,6	31,7	18,89	666,1	746,8	0,884	2580	270,2	0,89
96	9,3	91,6	31,8	19,06	847,1	932,8	0,908	3520	271,7	1,21
206	9,7	92,5	31,5	17,48	695,6	832,0	0,836	2949	282,8	1,01
318	9,8	92,0	44,8	22,54	908,4	1096,0	0,829	4217	388,5	1,03
322	9,8	92,0	44,8	22,91	921,0	1068,0	0,863	4127	387,7	1,00
218	9,7	102,5	12,1	13,18	482,3	575,9	0,838	1709	119,1	1,40
217	9,7	102,5	12,1	15,04	562,8	690,4	0,815	2245	120,4	1,81
112	9,7	104,0	12,4	14,82	459,2	533,2	0,861	1518	125,4	1,18
213	9,7	102,5	22,6	16,49	638,4	828,7	0,829	2643	224,6	1,14
107	10,0	104,0	23,4	17,82	573,2	676,4	0,847	2204	248,8	0,91
207	9,7	102,5	32,0	19,41	774,5	919,0	0,842	3382	318,0	1,03
97	9,3	104,0	33,4	21,84	813,6	924,9	0,880	3449	323,3	1,04
101	10,5	104,0	31,5	21,91	892,9	1024,0	0,872	3926	343,9	1,20
320	9,8	102,0	44,1	27,20	1066,0	1289,0	0,826	5149	422,5	1,15
321	9,8	102,0	43,8	26,70	1057,0	1220,0	0,866	4874	420,3	1,09
219	9,7	112,5	12,4	14,52	525,8	620,2	0,848	1931	135,8	1,38
113	9,7	114,0	12,8	15,87	472,2	580,0	0,814	1712	142,3	1,17
214	9,7	112,5	22,7	18,34	704,3	865,7	0,814	3088	248,0	1,21
215	9,7	112,5	23,2	18,94	712,2	878,9	0,810	3147	253,1	1,21
98	9,3	114,0	32,2	23,16	936,8	1064,0	0,880	4132	342,2	1,12
99	9,3	114,0	32,0	24,12	980,4	1123,0	0,873	4408	339,3	1,21
323	9,8	114,0	44,1	30,37	1284,0	1364,0	0,942	5702	473,0	1,11
324	9,8	114,0	43,6	30,07	1293,0	1425,0	0,907	5948	467,2	1,20
325	9,8	114,0	44,2	31,18	1347,0	1460,0	0,923	6144	473,5	1,22
220	9,7	122,5	10,5	15,25	524,7	649,8	0,808	2043	124,8	1,58
115	9,7	124,0	12,3	17,13	524,8	662,1	0,801	2097	148,1	1,38
216	9,7	122,5	22,8	19,46	758,4	937,3	0,809	3421	271,1	1,22
110	10,0	124,0	23,0	20,90	739,2	820,6	0,878	2958	285,3	1,07
102	10,5	124,0	31,9	27,45	1124,0	1431,0	0,857	5761	415,3	1,50
103	10,5	124,0	32,5	27,42	892,6	1227,0	0,726	4697	423,1	1,17
208	9,7	122,5	31,9	22,83	959,0	1118,0	0,858	4362	379,6	1,11

Tabelle IV.

Versuche bei 17,4 bis 19,1% geneigter Bahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
69	17,4	71,0	12,7	13,30	439,1	535,6	0,839	1502	156,2	1,62
70	17,4	71,0	12,7	13,33	436,6	528,4	0,826	1471	157,3	1,63
63	17,7	71,0	23,0	16,74	574,6	688,2	0,835	2251	288,4	1,39
64	17,7	71,0	23,0	16,45	577,8	692,7	6,834	2272	289,2	1,40
197	19,1	71,5	22,5	16,96	674,7	795,2	0,849	2783	308,2	1,72
57	17,8	71,0	31,3	20,53	910,5	1112,0	0,797	4397	296,2	1,98
58	17,8	71,0	31,6	20,94	862,9	1038,0	0,831	3917	399,3	1,87
202	19,1	71,5	31,5	20,59	908,2	1110,0	0,818	4271	430,8	1,89
326	18,5	71,0	44,5	25,81	1182,0	1353,0	0,874	5535	583,5	1,76
327	18,5	71,0	44,6	26,01	1066,0	1212,0	0,880	4856	585,3	1,54
328	18,5	71,0	44,9	26,55	1065,0	1282,0	0,830	5122	589,9	1,61
329	18,5	71,0	45,0	25,09	1086,0	1262,0	0,861	5070	591,0	1,59
72	17,4	82,0	12,3	14,22	465,3	558,9	0,832	1623	175,7	1,61
71	17,6	82,0	15,5	19,30	468,2	538,1	0,870	1547	221,5	1,22
66	17,7	82,0	22,5	18,71	735,9	859,1	0,856	3101	327,0	1,63
65	17,7	82,0	23,0	18,51	703,6	844,1	0,834	3005	334,4	1,60
198	19,1	82,5	22,8	18,64	775,4	896,6	0,865	3294	358,7	1,75
60	17,8	82,0	30,7	23,50	1054,0	1298,0	0,812	5168	448,6	2,04
59	17,8	82,0	32,4	24,54	1085,0	1236,0	0,877	4970	472,9	1,88
203	19,1	82,5	31,9	23,04	1043,0	1272,0	0,821	5055	502,4	1,92
330	18,5	82,0	43,2	29,02	1291,0	1463,0	0,883	6090	654,8	1,72
331	18,5	82,0	44,3	28,34	1329,0	1523,0	0,873	6361	672,7	1,75
73	17,4	92,0	12,6	14,80	451,9	564,1	0,801	1626	201,1	1,41
74	17,4	92,0	12,6	14,85	493,5	588,3	0,839	1770	201,2	1,54
78	17,4	92,0	15,3	15,27	507,9	575,0	0,833	1737	244,7	1,24
83	18,0	92,0	22,4	19,51	812,5	948,9	0,856	3538	370,6	1,72
68	17,7	92,0	23,0	21,35	814,6	1036,0	0,786	3875	374,5	1,84
199	19,1	92,5	23,0	21,24	883,7	1023,0	0,863	3912	406,6	1,84
200	19,1	92,5	23,3	20,90	871,4	1023,0	0,851	3898	412,0	1,81
61	17,8	92,0	33,0	27,26	1260,0	1807,0	0,697	7363	540,7	2,43
62	17,8	92,0	33,1	27,62	1240,0	1706,0	0,727	6955	541,9	2,29
204	19,1	92,5	31,3	25,79	1135,0	1416,0	0,801	5718	554,0	1,97
332	18,5	92,0	44,6	36,90	1723,0	1827,0	0,923	7954	760,0	1,94
77	17,4	104,0	12,3	16,37	563,9	657,1	0,858	2119	222,5	1,66
76	17,4	104,0	12,8	16,68	568,0	678,0	0,838	2204	230,7	1,67
84	18,0	104,0	22,4	22,56	988,9	1133,0	0,873	4459	420,2	1,91
85	18,0	104,0	22,9	23,65	1081,0	1240,0	0,872	4979	429,1	2,09
89	18,1	104,0	28,7	32,09	1532,0	1612,0	0,950	6953	539,9	2,33
90	18,0	104,0	29,9	32,18	1571,0	1671,0	0,940	7227	559,5	2,33
80	17,4	112,0	12,4	19,87	690,6	795,8	0,868	2804	241,0	2,03
81	17,4	112,0	12,4	18,76	663,1	799,9	0,829	2786	241,0	2,02
86	18,0	114,0	22,8	26,08	1122,0	1367,0	0,893	5641	468,6	2,17
87	18,0	114,0	23,0	26,04	1215,0	1394,0	0,871	5732	470,9	2,19
91	18,1	114,0	32,7	36,84	1766,0	1861,0	0,949	8195	675,1	2,20
79	17,4	122,0	12,4	21,55	881,7	1001,0	0,881	3822	263,3	2,51
82	17,4	122,0	12,8	21,20	830,9	920,1	0,911	3451	272,3	2,30
88	18,0	124,0	23,2	29,12	1348,0	1496,0	0,901	6286	517,6	2,19
201	19,1	122,5	23,2	32,47	1457,0	1604,0	0,909	6833	542,8	2,40

Tabelle V.

Versuche mit 27,9% geneigter Bahn (natürliche Neigung).

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
16	27,9	71,5	10,1	15,30	559,1	629,4	0,888	2008	202,0	2,78
15	27,9	72,0	11,2	15,38	579,3	706,4	0,820	2325	225,6	2,74
35	27,9	71,5	11,3	15,07	528,2	686,8	0,768	2189	225,3	2,72
34	27,9	71,5	12,2	15,85	551,0	627,0	0,879	1988	243,4	2,28
40	27,9	71,5	12,5	17,11	603,1	671,5	0,898	2222	248,8	2,49
37	27,9	71,5	12,6	15,66	561,6	685,5	0,819	2225	251,3	2,46
13	27,9	72,0	15,7	18,55	731,3	837,8	0,873	3015	316,1	2,63
12	27,9	72,0	16,8	17,98	795,7	919,0	0,866	3402	338,1	2,77
9	27,9	71,0	20,0	21,17	794,0	968,5	0,829	3592	397,9	2,74
8	27,9	71,0	20,9	20,75	853,7	1040,0	0,820	3937	413,1	2,66
21	27,9	71,5	21,6	21,52	956,1	1098,0	0,871	4283	431,6	2,77
20	27,9	71,5	21,7	21,87	947,0	1103,0	0,859	4293	434,1	2,77
19	27,9	71,5	22,2	22,43	981,0	1115,0	0,879	4383	444,7	2,75
11	27,9	72,0	22,4	21,34	1029,0	1163,0	0,885	4622	449,1	2,76
10	27,9	72,0	22,6	21,17	1005,0	1171,0	0,858	4622	453,3	2,73
17	27,9	71,5	25,4	23,96	1149,0	1257,0	0,914	5126	507,6	2,82
18	27,9	71,5	25,6	24,45	1152,0	1282,0	0,898	5226	511,4	2,83
23	27,9	71,5	33,5	30,01	1404,0	1599,0	0,878	6749	669,1	2,81
26	27,9	71,5	34,4	29,60	1300,0	1654,0	0,848	6957	683,0	2,84
25	27,9	71,5	34,6	29,50	1250,0	1723,0	0,725	7029	691,6	2,84
24	27,9	71,5	45,4	37,54	1955,0	2195,0	0,891	9702	679,9	2,99
311	27,9	72,0	44,0	37,63	1950,0	2027,0	0,940	9000	859,0	2,84
313	27,9	72,0	43,8	38,46	1948,0	2152,0	0,900	9520	851,7	3,02
41	27,9	82,0	11,2	17,59	606,0	693,8	0,873	2310	255,3	2,53
42	27,9	82,0	11,6	17,50	629,3	716,4	0,878	2426	265,5	2,54
38	27,9	82,0	12,6	18,35	652,7	781,1	0,836	2703	288,4	2,62
43	27,9	82,0	12,7	18,73	684,6	781,9	0,876	2744	290,9	2,63
44	27,9	82,0	12,7	18,64	704,1	798,1	0,882	2830	290,2	2,73
48	27,9	82,0	20,1	23,30	1021,0	1152,0	0,887	4570	460,5	2,77
27	27,9	81,8	22,8	25,14	1068,0	1264,0	0,825	5027	520,5	2,69
28	27,9	81,8	23,4	25,87	1169,0	1300,0	0,879	5284	534,0	2,77
49	27,9	82,0	23,0	25,34	1139,0	1280,0	0,889	5204	525,1	2,77
31	27,9	81,8	24,0	26,35	1226,0	1387,0	0,884	5718	537,3	2,92
32	27,9	81,8	24,6	27,02	1200,0	1375,0	0,873	5645	560,6	2,81
29	27,9	81,8	25,3	27,53	1227,0	1419,0	0,845	5807	577,7	2,80
53	27,9	82,0	32,4	32,59	1650,0	1770,0	0,932	7704	740,6	2,91
54	27,9	82,0	32,5	32,86	1660,0	1811,0	0,917	7874	742,3	2,96
33	27,9	81,8	39,0	40,68	2051,0	2209,0	0,928	9872	890,9	3,09
47	27,9	92,0	11,1	18,54	679,3	797,8	0,853	2799	284,2	2,75
45	27,9	92,0	12,8	20,77	798,1	922,9	0,894	3455	328,0	2,94
50	27,9	92,0	21,8	27,90	1318,0	1507,0	0,874	6290	560,9	3,13
51	27,9	92,0	19,9	27,38	1198,0	1455,0	0,823	5942	511,7	3,25
52	27,9	92,0	22,9	30,03	1473,0	1612,0	0,872	6808	587,5	3,24
55	27,9	92,0	32,2	38,36	1946,0	2026,0	0,960	9047	826,2	3,06
56	27,9	92,0	32,3	40,21	1964,0	2104,0	0,933	9363	829,8	3,15

Tabelle V (Fortsetzung).

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
156	27,9	105,0	12,2	19,92	866,5	1036,0	0,837	3938	357,9	3,07
157	27,9	105,0	12,2	20,72	960,2	1053,0	0,860	4049	357,6	3,16
150	27,9	105,0	22,3	31,84	1570,0	1652,0	0,950	7154	651,8	3,06
151	27,9	105,0	23,0	31,49	1555,0	1716,0	0,906	7380	673,5	3,06
162	27,9	104,5	30,0	42,25	2332,0	2379,0	0,980	10867	875,8	3,46
163	27,9	104,5	32,5	44,11	2280,0	2289,0	0,996	10459	949,6	3,07
158	27,9	115,0	12,5	21,73	971,2	1143,0	0,850	4474	401,4	3,11
159	27,9	115,0	12,6	22,24	1003,0	1179,0	0,850	4652	402,9	3,22
152	27,9	115,0	22,7	37,47	1450,0	1907,0	0,760	7979	729,8	3,06
153	27,9	115,0	22,3	36,92	1809,0	1857,0	0,974	8230	716,6	3,20
160	27,9	124,5	12,3	22,89	1037,0	1171,0	0,885	4666	428,1	3,04
161	27,9	124,5	12,5	25,10	1171,0	1295,0	0,905	5302	432,3	3,42
154	27,9	125,0	22,2	38,78	1966,0	1982,0	0,992	8899	773,8	3,21
155	27,9	125,0	22,1	38,83	1887,0	1938,0	0,976	8619	769,8	3,12

Tabelle VI.

Versuche bei 34,3 bis 35,6% geneigter Bahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
182	35,6	71,0	12,0	16,72	835,8	959,6	0,870	3615	302,9	4,24
183	35,6	71,0	12,1	18,24	809,6	937,2	0,864	3491	306,5	4,05
176	34,3	71,0	21,9	24,08	1238,0	1396,0	0,888	5763	536,1	3,69
177	34,3	71,0	20,4	23,08	1121,0	1324,0	0,847	5353	498,2	3,69
193	34,7	71,0	30,6	30,48	1542,0	1786,0	0,863	7631	753,9	3,51
194	34,7	71,0	30,9	32,03	1633,0	1791,0	0,912	7760	761,8	3,53
184	35,6	84,0	12,2	19,42	838,9	986,5	0,850	3714	364,6	3,62
185	35,6	84,0	12,4	19,12	822,2	979,0	0,840	3666	370,6	3,52
178	34,3	84,0	22,4	28,93	1464,0	1663,0	0,880	7069	646,4	3,75
179	34,3	84,0	22,8	29,84	1465,0	1692,0	0,866	7177	656,9	3,75
195	34,3	82,0	31,2	37,89	1959,0	2096,0	0,934	9327	886,9	3,65
196	34,3	82,0	31,3	37,99	1975,0	2115,0	0,934	9427	889,7	3,67
186	35,6	94,0	12,5	21,14	917,5	1061,0	0,865	4097	418,0	3,49
188	35,6	94,0	12,2	21,51	998,2	1126,0	0,887	4440	408,2	3,87
180	34,3	94,0	22,7	34,05	1689,0	1808,0	0,934	7896	731,7	3,70
181	34,3	94,0	22,7	34,10	1689,0	1874,0	0,902	8146	731,7	3,81
189	35,6	104,0	12,1	23,52	1068,0	1228,0	0,870	4917	447,4	3,91
190	35,6	104,0	12,4	23,25	1003,0	1157,0	0,867	4567	457,8	3,55
191	35,6	114,0	12,4	27,78	1314,0	1453,0	0,904	6078	503,7	4,29
192	35,6	114,0	12,3	28,82	1322,0	1510,0	0,876	6308	496,9	4,51

Tabelle VII.

Versuche bei 38,8% geneigter Bahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
172	38,8	71,0	22,7	31,69	1623,0	1844,0	0,880	7953	626,6	4,93
173	38,8	71,0	23,0	31,46	1595,0	1844,0	0,865	7914	631,7	4,86
174	38,8	84,0	21,9	36,08	1869,0	2028,0	0,922	8951	716,2	4,85
175	38,8	84,0	21,7	36,09	1865,0	2079,0	0,898	9147	709,3	5,00

Tabelle VIII.

Versuche mit 42,0% geneigter Bahn.

Nr.	Steigung %	Gewicht kg	Geschwindigkeit m	Min.-Vol.	CO_2	O_2	R.Q.	Umsatz nach Abzug des Ruhew.	Steigarbeit mkg	Cal. pro kg u. m Bahn
164	42,0	71,0	11,9	20,50	973,8	1148,0	0,848	4498	355,4	5,32
165	42,0	71,0	12,5	20,46	992,2	1107,0	0,896	4366	371,6	4,94
166	42,0	83,0	10,5	22,53	1129,0	1276,0	0,885	5177	367,1	5,93
167	42,0	83,0	12,6	22,69	1343,0	1502,0	0,894	6302	441,1	5,74
168	42,0	94,0	12,6	26,35	1329,0	1461,0	0,910	6127	496,0	5,19
169	42,0	94,0	12,6	26,09	1213,0	1461,0	0,830	5987	496,0	5,08
170	42,0	104,0	12,6	30,47	1210,0	1380,0	0,876	5674	549,1	4,35
171	42,0	104,0	12,5	32,03	1592,0	1691,0	0,941	7329	547,9	5,63

Die Versuche sind in dreifacher Richtung gruppiert; als Haupteinteilungsgrund wurde die Bahnneigung gewählt, da ihrem Einfluß auf den Umsatz die Untersuchungen in erster Linie galten. So wurden 8 Gruppen von Versuchen zusammengestellt: für 0, 4,7, 10,0 (ungefähr), 18 (ungefähr), 27,9, 35,0 (ungefähr), 39,0 (ungefähr) und 42% Steigung. Die erste Gruppe diente nur zum Vergleich mit den früheren Versuchen.

Den zweiten Einteilungsgrund bildete die fortbewegte Last, diese betrug ebenso wie in den früheren Versuchen: Körpergewicht der Versuchsperson + etwa 3 (bloße Kleiderlast) 14, 24, 36, 46, 56 kg. Letztere Belastung wurde weitaus häufiger getragen als bei der früheren Versuchsreihe auf ebener Bahn, entweder hatte die V.-P. sich besser an diese Last gewöhnt, oder ließen kleine technische Änderungen in der Art sie anzubringen die Last leichter tragen. Hohe Belastungen schlossen Marsch mit höheren Geschwindigkeiten selbstverständlich aus. Innerhalb dieser Untergruppen wurden die Versuche noch nach

der beiläufigen Geschwindigkeit geordnet. Die vorhandenen Motor- und Vorgelegescheiben erlaubten es, sechs verschiedene Geschwindigkeitstypen zu erzielen, etwa von 11, 16, 21, 27, 32, 44, 53 m pro Minute. Am häufigsten wurden die Geschwindigkeiten von 11, 21, 32, öfters die von 44, 53, die übrigen fast gar nicht angewendet. Bei starkem Neigungswinkel kamen natürlich nur die geringen Geschwindigkeiten in Betracht, bei schwachen Neigungen wurde von diesen meist abgesehen, da sich hier dem subjektiven Gefühl nach Bremsarbeit störend bemerkbar machte. Hier wären höhere Geschwindigkeiten erwünscht gewesen, waren aber, wie gesagt, aus Gründen der Tretbahnkonstruktion nicht anwendbar.

Durch diese dreifache Variierung der Versuchsbedingungen war schon eine erhebliche Anzahl von Versuchen erforderlich. Da den Autoren von ihrer früheren Arbeit her die große Schwankungsbreite der Versuchsresultate bekannt war, wurden von jeder Kombination mindestens 2 Versuche, in zahlreichen Fällen mehr angestellt, so daß im ganzen, die Kontrollversuche auf eben gestellter Tretbahn eingerechnet, 220 Versuche resultierten. Die Versuchszahl wäre noch größer geworden, wenn nicht der Variierung der Bedingungen Grenzen nach oben zu gesetzt gewesen wären. Die Neigung konnte nicht stärker gewählt werden, da die Versuchsperson sonst ins Rutschen gekommen wäre, die Belastung nicht wegen des sonst unerträglichen, zur Behinderung der Atmung und Kompression der Vena subclavia führenden Drucks der Tornisterriemen, die Geschwindigkeit wegen der gebotenen Schonung der Tretbahn. Die Geschwindigkeit konnte überhaupt nur in etwas beschränktem Maße variiert werden. So interessant es daher gewesen wäre, zahlreiche Versuche mit extrem hohen Umsätzen durchzuführen, wurden solche nur bei der Neigung von 27,9% und höheren Neigungen durch entsprechende Kombination von Geschwindigkeit und Last erzielt. Diese Höchstleistungen betrugen nahezu oder sogar etwas mehr als 10000 cal pro Minute (nach Abzug des Ruheumsatzes von 1083 cal pro Minute) und repräsentieren wohl nahezu die Maximalleistungen der Versuchsperson.

Von den Versuchspersonen Benedicts und Cathcarts[1]) setzte die eine, der professionelle Radfahrer M. A. M., wesent-

[1]) Washington, D. C., Carnegie Institution 1913.

lich mehr, nämlich bis über 16300 cal pro Minute um, während die übrigen Versuchspersonen mit ihren Maximalumsätzen wesentlich hinter Brezina zurückblieben und nur die Versuchsperson K. H. A. dessen Maximalumsatz einmal mit 10440 cal nahe kam.

Es sei nun zunächst eine bei Betrachtung der Versuchsresultate sofort auffallende Erscheinung besprochen, deren Studium nicht im Plane der Versuche lag, deren Bewertung aber für die Art der Berechnung von einer gewissen Bedeutung ist. Die Zunahme der respiratorischen Quotienten bei großen Umsätzen in der Zeiteinheit.

Da das Verhältnis der produzierten Kohlensäure zum verbrauchten Sauerstoff in erster Linie durch die Art der Nahrung vor und während des Versuches, dann durch das Maß der vorangegangenen Muskelarbeit bedingt wird, sind größere Schwankungen des R.Q. innerhalb der vorliegenden Versuche nicht auffallend, wir haben auch unterlassen, die zahlenmäßige Beziehung des R.Q. zum Umsatze in exakter Weise zu berechnen, da die Streuung vermutlich zu groß gewesen wäre, ist ja, wie auch aus Versuchen von Toegel, Brezina und Durig[1]), ebenfalls an der Versuchsperson Brezina vorgenommen, hervorgeht, auch dann der R.Q. nicht unerheblichen Schwankungen unterworfen, wenn die Versuchsperson sich bemüht, in den dem Versuche vorhergehenden 24 Stunden sich möglichst gleichmäßig hinsichtlich Nahrung und Bewegung zu verhalten. So beschränkten wir uns denn darauf, für die zwischen je 1000 cal pro Minute liegenden Arbeitsumsätze die Mittel der R.Q. zu berechnen. Diese steigen in etwas unregelmäßiger Weise (von 1000 cal bis über 10000 cal) anfangs schwächer, später stärker an, wobei die Schwankungsbreite des Einzelversuches eine sehr große ist (Tabelle IX).

Die Bedeutung dieser scheinbar nebensächlichen Tatsache für die zu lösende Hauptfrage, die Größe des Umsatzes unter verschiedenen Bedingungen erhellt daraus, daß die durch gleiche Mengen verbrauchten Sauerstoffs im Körper erzeugte Wärmemenge (calorischer Wert des Sauerstoffs) nach dem R.Q. verschieden, und zwar um so größer ist, je größer der R.Q., und zwar unter der Voraussetzung, daß im wesentlichen die umgesetzte Energie auf Fett- und Kohlenhydratverbrennung beruht und daß

[1]) Diese Zeitschr. 50, 1913.

diese vollständig ohne die Bildung von Zwischenprodukten erfolgt. Wie Zuntz und Schumburg näher auseinandersetzen und durch eine einfache Rechnuug begründen, beträgt die Zunahme der 1 ccm O entsprechenden Wärme für die Zunahme des R.Q. um 001 = 0,00123 cal, da Größerwerden des R.Q. einer Zunahme der verbrannten Kohlenhydrate gegenüber dem Fett entspricht und erstere bei gleicher Menge benötigten Sauerstoffs mehr Wärme liefern.

Tabelle IX.

Höhe der respiratorischen Quotienten bei verschieden großem Arbeitsumsatze.

Zahl der Versuche	Arbeitsumsatz pro Min. cal	Arithmetisches Mittel des Arbeitsumsatzes cal	Arithmetisches Mittel des respir. Quotienten
29	1000 bis 2000	1654	0,832
40	2000 bis 3000	2442	0,847
31	3000 bis 4000	3547	0,841
30	4000 bis 5000	4475	0,857
27	5000 bis 6000	5475	0,865
15	6000 bis 7000	6483	0,895
16	7000 bis 8000	7564	0,887
6	8000 bis 9000	8507	0,953
7	9000 bis 10000	9412	0,925
2	10000 bis 11000	10663	0,988

Die Vorstellung, daß bei Zunahme der Minutenleistung eine Verschiebung der Verbrennungsprozesse bei der Versuchsperson im Sinne einer erhöhten Kohlenhydratverbrennung und Fettsparung erfolgen sollte, kann nun wohl a limine abgelehnt werden.

Es bleibt demnach nur die Annahme übrig, daß entweder durch den großen Energieumsatz in den Geweben lokaler Sauerstoffmangel eintritt, der zur Bildung unvollständiger Verbrennungsprodukte und so zur Erhöhung des R.Q. führt, oder daß, und zwar, wie Douglas[1]) und Haldane erklären, infolge einer Überventilation der Lungen bei starker Arbeit Kohlensäure in relativ größerer Menge ausgeschieden wird.

Die erstere Vermutung gewinnt an Wahrscheinlichkeit, wenn wir das einer Calorie entsprechende Atemvolum bei verschieden großen Umsätzen betrachten.

[1]) Journ. of Physiol. 38, 420, 1909.

Tabelle X.

Versuch Nr.	Minuten-Umsatz in Calorien	Luftvolumen, ventiliert pro Calorie
A. Minutenumsatz unter 2600 cal (sämtliche derartige Versuche).		
116	2171	5,39
221	2450	4,64
222	2549	4,63
114	2184	5,33
111	2119	5,22
112	2521	5,43
B. Minutenumsatz von 2600 bis 3600 cal (Stichproben).		
301	3104	3,95
302	3094	3,94
303	3055	3,92
255	3421	4,03
256	3198	3,97
257	3275	4,24
258	3280	4,21
259	3289	4,31
300	3541	3,73
307	3083	3,90
308	3607	3,90
309	3638	3,63
310	3571	3,86
121	2670	5,10
C. Minutenumsatz von 5000 bis 6000 cal (Stichproben).		
317	5083	3,91
321	5957	4,48
98	5215	4,44
99	5491	4,39
103	5780	4,74
208	5445	4,20
57	5480	3,74
58	5354	3,85
11	5705	3,73
10	5705	3,71
D. Minutenumsatz über 10000 cal (sämtliche derartige Versuche).		
24	10 785	3,48
311	10 083	3,73
313	10 603	3,63
33	10 955	3,71
55	10 130	3,83
56	10 446	3,85
162	11 921	3,54
163	11 542	3,82
195	10 410	3,64
196	10 510	3,71
174	10 034	3,49
175	10 230	3,53

In Tabelle X sind einige der auf den Generaltabellen verzeichneten Versuche in der Weise zusammengestellt, daß neben

dem Gesamtumsatz in Calorien (= Arbeitsumsatz + dem Ruheumsatz von 1083 cal) das Luftvolumen eingetragen ist, das pro Calorie ausgeatmet wurde. Die Versuche sind nach der Größe des Umsatzes in 4 Gruppen geordnet, und zwar:

A. Kleinste Umsätze unter 2600 cal B. kleine Umsätze von 2600 bis 3600 cal (Stichproben), C. größere Umsätze zwischen 5000 und 5800 cal (Stichproben), endlich D. hohe Umsätze, und zwar sämtliche über 10000 cal liegende.

Die ausgeatmeten Gasvolumina sind in der ersten Gruppe unverkennbar am größten und liegen etwa um 5 ccm, so daß man hier wohl von einer Art Luxusatmung sprechen kann, sie unterscheiden sich kaum in den Gruppen B und C, wo das Luftvolumen im Durchschnitt etwas über 4 ccm pro Calorie beträgt, sie sind aber deutlich kleiner, etwa um 3,7 ccm in der Gruppe der höchsten Umsätze. Von einer Überventilation bei hohen Umsätzen kann demnach keine Rede sein, es liegt im Gegenteil eher eine Unterventilation vor.

Die bisherigen Untersuchungen über das Verhalten des R.Q. bei Ruhe und Arbeit geben keine übereinstimmenden Resultate. Speck[1]) findet eine Zunahme des R.Q. durch Arbeit. Katzenstein bestreitet eine solche und gibt eine Tabelle wieder, in der nach den an mehreren Versuchspersonen gemachten Beobachtungen die R.Q. für starke Arbeit durchschnittlich der für „schwache Arbeit" gleich waren. Gegen die Beweiskraft dieser Befunde wäre indessen einzuwenden, daß es sich um Befunde an verschiedenen Personen handelt, noch mehr aber, daß die „starke Arbeit" nicht annähernd so hohe Umsätze zur Folge hatte als die Versuche der Verfasser. Nach den an Katzensteins Publikation angeschlossenen Generaltabellen betrug in dessen Versuchen der Minutenumsatz, wie aus dem Sauerstoffverbrauch geschlossen werden kann, wohl niemals mehr als etwa 7000 cal, hielt sich also in den Grenzen, für die auch in unseren Versuchen der R.Q. noch nicht auffallend in die Höhe rückt.

A. Loewy wieder beobachtete bei großen Muskelleistungen — auch die Umsätze seiner Versuchsperson bewegten sich unterhalb unseren maximalen, da es sich um Versuche am Ergo-

---

[1]) Speck, Physiologie des menschl. Atmens. Leipzig 1892.

staten, also mit den relativ schwächeren Armmuskeln handelte, eine ganz wesentliche Zunahme der R.Q., die er auf Bildung unvollständiger Verbrennungsprodukte infolge lokalen Sauerstoffmangels zurückführt.

Benedict und Cathcart arbeiteten nach einer von der Zuntzchen Technik verschiedenen Methode, bei der es fraglich erscheinen muß, ob richtige respiratorische Quotienten gewonnen werden — fanden sie doch einmal einen R.Q. über 1,0 in einem Ruheversuch an einer nüchternen Versuchsperson —; diese Autoren geben eine Tabelle, nach der der R.Q. bei ziemlich intensiver Muskelarbeit (Radfahren) anfangs steigt, um dann nach länger dauernder Arbeit wieder zu sinken. Falls man die Richtigkeit der Befunde annehmen darf, stehen sie zu unseren Befunden sowie zu denen von Durig (Bilkengratversuche) in guter Übereinstimmung. Die anfänglichen, nach kurz dauernder Arbeit sind hoch wie bei uns, da die Versuchsperson Brezina nur kurzdauernde Arbeit leistete, die sinkenden R.Q. bei Benedict und Cathcarts Versuchspersonen nach längerer Arbeit, denen wir nichts zum Vergleich gegenüberzustellen haben, sind den Befunden Durigs bei stundenlanger Steigarbeit vergleichbar. Das Verhalten des R.Q. nach der Arbeit wurde in unseren Versuchen niemals untersucht.

Was immer die Ursache dieses Verhaltens der R.Q. bei Zunahme der Minutenumsätze sei, sobald er nicht durch die Verschiedenheit des vom Körper benutzten Brennmateriales bedingt ist, begeht man einen gewissen Fehler, wenn man die Methode von Zuntz zur Berechnung der umgesetzten Calorien verwendet. Eine Korrektur erscheint nicht möglich. Setzt man nämlich an Stelle der gefundenen R.Q. einen mittleren, so tritt an Stelle eines unrichtigen Wertes ein anderer, gleichfalls unrichtiger, da der R.Q. unter allen Umständen nicht unbeträchtlich schwankt. Aus früheren, an der gleichen Versuchsperson erhobenen Befunden geht hervor, daß Brezinas R.Q. auch morgens im nüchternen Zustande bei vorsätzlicher Körperruhe sich etwa zwischen 0,80 und 0,90 bewegte, selbst wenn durch möglichst gleichmäßiges Verhalten und Wahl ähnlicher (kohlenhydratreicher) Nahrung am Vortage die Art des dem Körper zur Verfügung stehenden Brennmateriales relativ gleich war. Zum Teil ist daher der bei den Versuchen

gefundene R.Q. sicherlich der Ausdruck verschiedener, und zwar vollkommener, mit verchieden großer Wärmeentwicklung verbundener Verbrennungsvorgänge, man beginge demnach aus diesem Grunde schon gleichfalls einen Fehler, wollte man die Umsätze lediglich nach dem Sauerstoffverbrauch beurteilen, überdies auch deshalb, weil der calorische Wert des Sauerstoffs bei Bildung der im Körper bei O-Mangel auftretenden Zwischenprodukte unbekannt ist.

Ein Versuch, einzelne hohe Umsätze unter Benutzung eines mittleren angenommenen R.Q. (= 0,86) umzurechnen, ergab übrigens, daß eine sehr wesentliche Änderung der Resultate hierdurch nicht bewirkt wird, so daß wir uns entschlossen haben, die Berechnungsweise der Umsätze nicht zu ändern, um so mehr als die Mehrzahl der anderen Autoren in dieser Weise vorgeht.

Wir wollen an dieser Stelle auf eine Diskussion der Versuchsresultate auf Grund des in den Tabellen enthaltenen Materiales in der bisher meist gepflogenen Form nicht eingehen. Es ergibt zwar eine Gruppierung der zahlenmäßigen Ergebnisse nach steigender Geschwindigkeit bei mäßiger Änderung der Leistung und ausgeschaltetem Einfluß der verschiedenen Neigung, ferner eine Gruppierung nach steigender Neigung beziehungsweise steigender Leistung oder steigender Last bei sonst in ihrer Wirkung unveränderten Grundbedingungen wohl das Bild der Gesetzmäßigkeiten, die aus den Beobachtungen abzuleiten sind, in genügender Deutlichkeit, dennoch scheint es, um einer Wiederholung der Resultate vorzubeugen, zweckmäßiger, diese Ergebnisse erst am Schlusse der folgenden Mitteilung zusammenzufassen.

Die große Zahl und die Schwankungsbreite der Einzelresultate ließen nämlich den Wunsch rege werden, durch Anwendung exakter mathematischer Methoden eine richtige allgemeine Beschreibung der Versuchsergebnisse zu erreichen.

Dieser Aufgabe einer mathematischen Behandlung unserer vorliegenden Versuchsergebnisse unterzog sich Reichel im Verein mit Brezina in der nachfolgenden Abhandlung.

Über den Energieumsatz bei der Marscharbeit.

III. Die Gesetze des Marsches auf ansteigender Bahn.

Von

Ernst Brezina und Heinrich Reichel.

(Aus dem Physiologischen Institut der k. k. Hochschule für Bodenkultur und dem Hygienischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 19. Mai 1914.)

Mit 8 Figuren im Text.

Die in der vorausgehenden Arbeit von Brezina und Kolmer niedergelegten Versuchsergebnisse gestatten durch ihre Zahl und durch die große Breite der absichtlich variierten Bedingungen zum erstenmal eine quantitative Betrachtung darüber anzustellen, welcher Einfluß auf den Energieumsatz beim Steigmarsch der Steigung selbst sowie auch der Belastung und der Marschgeschwindigkeit zukommt.

Aus den früheren Untersuchungen haben wir für den Marsch auf horizontaler Bahn, solange nur eine bestimmte obere Grenze der Marschgeschwindigkeit nicht überschritten wird, verhältnismäßig einfache Gesetzmäßigkeiten ableiten können: Der Umsatz pro Kilogramm des Gesamtgewichts und pro Meter Weg hängt innerhalb dieser Grenzen nicht von der Geschwindigkeit, wohl aber von der Belastung, und zwar in einer solchen Weise ab, daß mittlere Lasten die geringsten Umsätze bedingen. Es erschien nun, um diese festgelegten Beziehungen womöglich verwenden zu können, zweckmäßig, hier ebenfalls zunächst das beobachtete Versuchsergebnis als Umsatz pro Kilogramm Gesamtgewicht und Meter Weg in seiner Abhängigkeit von den willkürlich variierten Bedingungen: Geschwindigkeit, Last und Steigung zu betrachten.

Die dem schrägen Wege von 1 m zukommende Steigung beträgt — wie aus der Fig. 1 ersichtlich — $\sin \alpha$, welche Größe

als Steigungsprozent gemessen ist; sin α m stellt die jener Leistung beigeordnete Steighöhe, sin α mkg die Hubarbeit vor. Die gefundenen Zahlen für den Umsatz pro Kilogramm und Meter finden sich im letzten Stabe der Generaltabelle in der vorausgehenden Arbeit. Schon eine oberflächliche Betrachtung dieser Zahlen lehrt ihr starkes Anwachsen mit der Steigung und ein unverkennbares Steigen bei den höheren Belastungen im Vergleich zu den geringen und mittleren, während ein sicherer Einfluß der Marschgeschwindigkeit nicht hervortritt. Dadurch erscheint die später zu prüfende vorläufige Annahme berechtigt, daß in dem ganzen vorliegenden Versuchsmaterial das oben für den horizontalen Marsch erwähnte Gesetz der Unabhängigkeit des Umsatzes von der Marschgeschwindigkeit gilt, mit anderen Worten, daß die Grenze der ökonomischen Maximalgeschwindigkeit bei den vorliegenden Steigmarschversuchen nirgends überschritten wurde.

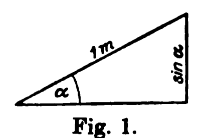


Fig. 1.

Für die Beantwortung der zweiten Vorfrage, ob auch die beim Horizontalmarsch gefundene Abhängigkeit des Umsatzes von der Last sich hier wiederfinden läßt, darf also schon die Marschgeschwindigkeit außer Betracht gelassen werden, so daß alle Umsatzwerte innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen mit gleicher Steigung nur in ihrer Abhängigkeit von der Last zu betrachten sind. Dies kann am einfachsten geschehen, wenn — wie in Fig. 2 darzustellen versucht wurde — die Umsatzwerte als Ordinaten in ein dreiachsiges, und zwar Steigungs-Last-Umsatzkoordinatensystem eingetragen werden[1]). Das Versuchsmaterial gliedert sich in 8 Versuchsgruppen verschiedener Steigung; innerhalb jeder Gruppe sind die Steigungen zwar nicht ganz identisch, doch wurden zur Vereinfachung des Bildes in unserer Figur alle Umsatzwerte einer Gruppe auf den mittleren Steigungswert bezogen. Die Lastkoordinatenachse ist vom Beschauer aus als nach hinten gerichtet zu denken. Es erscheinen so im Bilde 8 Blätter in perspektivischer Verkürzung als hintereinanderstehend, auf deren jedem die Umsatzwerte bei einer Steigung

[1]) Im allgemeinen bezeichnen die Schnittpunkte der Kreuze die Lage der Ergebnisse der Einzelversuche; wo 2 oder 3 solche genau zusammenfallen, ist das durch runde Punkte bzw. Punkte und Kreise angedeutet.

in einem Last-Umsatzkoordinatensystem liegen. Die obige Frage lautet dann, ob aus der Lage der Punkte auf diesen Blättern auf das Vorhandensein einer stetigen Beziehung zwischen Umsatz und Last geschlossen werden kann, und ob eine solche Beziehung etwa mit der für den Horizontalmarsch gefundenen übereinstimmen könnte; mit anderen Worten, ob und in welcher Weise der Umsatz als eine Funktion der Last aufgefaßt werden kann.

Schon für eine überblickende Betrachtung muß zunächst jene Annahme gemacht werden, die auch Voraussetzung einer tiefer eingehenden rechnerischen Lösung der Frage ist, daß nämlich die einzelnen beobachteten Umsatzwerte sich ceteris paribus, d. h. bei gleicher Steigungs- und Lastkoordinate, nur infolge zufälliger, d. h. nicht in Betracht ziehbarer Ursachen untereinander überhaupt unterscheiden. Soweit sich also ein Auseinanderfallen der Versuchsergebnisse innerhalb der einzelnen Vertikelreihen,

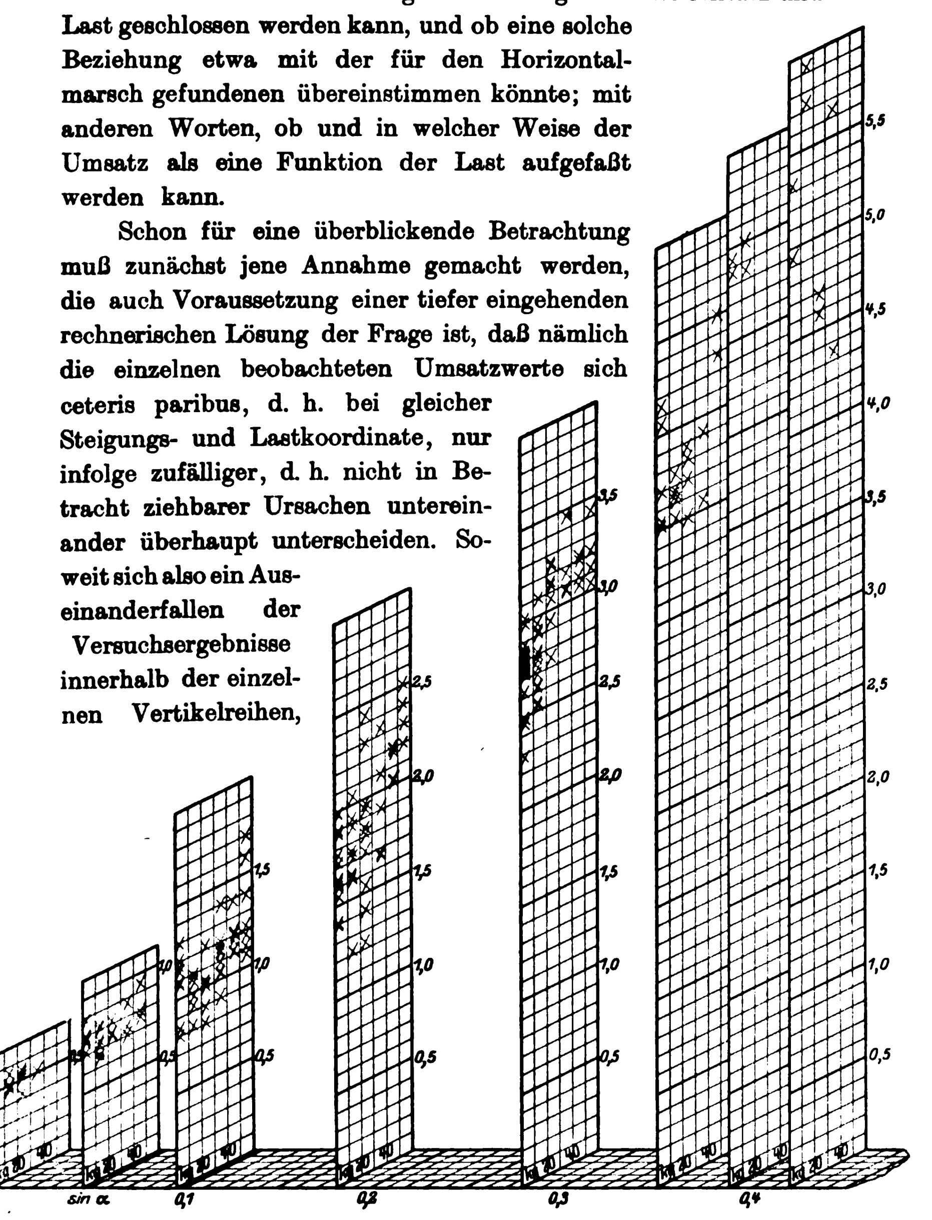


Fig. 2.

wie es im Bilde zu sehen ist, nicht schließlich doch noch etwa durch die zunächst ausgeschaltete Differenz in der Marschgeschwindigkeit erklären lassen wird, muß hier angenommen werden, daß dieses Auseinanderfallen teils auf wirklichen Umsatzverschiedenheiten infolge unbekannter Zustandsdifferenzen der Versuchsperson, teils auf der Ungenauigkeit der Meßmethode beruhen. Je ferner einzelne Versuchsergebnisse abseits von den übrigen im Bilde zu liegen kommen, desto weniger Vertrauen wird ihnen für die Aufstellung der gesuchten Beziehung beizumessen sein. Einzelwerte, die extrem abseits von jedem möglichen, die Funktionsbeziehung darstellenden Kurvenzuge liegen, dürfen als abnorm bedingt oder als mit besonders großen Fehlern behaftet gelten. Eine solche Wertabschätzung von Einzelergebnissen darf sich allerdings nicht auf den Vergleich innerhalb einer kleinen, oft sehr wenig zahlreichen Gruppe von Versuchen stützen, sondern es muß hierfür die Gesamtheit der Ergebnisse und die im ganzen beobachtbare Streuungsbreite der Einzelwerte im Auge behalten werden, was uns eben nur bei einer Betrachtung der graphischen Darstellung, nicht bei einer Betrachtung der Zahlenreihen tunlich erscheint.

Eine solche Betrachtung lehrt nun unmittelbar, daß zwar eine Abhängigkeit des Umsatzes von der Last bei allen Steigmarsch-Versuchsgruppen unverkennbar besteht, daß aber zufolge der großen Streuungsbreite der Versuchsergebnisse bestimmte Funktionsbeziehungen in den einzelnen Gruppen gleicher Steigung offenbar nicht mit großer Zuverlässigkeit abgeleitet werden könnten.

Es erscheint um so mehr berechtigt, sich zunächst auf die Beantwortung der Frage zu beschränken, ob das einfachste Verfahren als zulässig erscheint, nämlich ob die für den Horizontalmarsch[1]) von uns abgeleitete Funktionalbeziehung auch hier als gültig anzunehmen ist. Diese Beziehung lautet:

$$U_h = 0{,}5 + \frac{(L - 19)^2}{10\,000}$$

und erscheint in Fig. 2 unserer früheren Arbeit graphisch zur Darstellung gebracht. Ihre gröbsten Merkmale, auf welche nach

[1]) Siehe diese Zeitschr. 63, 170.

der Sachlage allein Rücksicht genommen werden kann, sind, daß bis zu etwa 36 kg Last eine wesentliche Veränderung des Umsatzes nicht zu bemerken ist, und daß von da ab eine Erhöhung des Umsatzes mit der Last stattfindet, die jedoch im untersuchten Gebiet, d. h. für unseren Fall bis 56 kg nicht viel mehr als 0,1 cal beträgt. Daß der niedrigste Wert ungefähr in der Mitte des wenig veränderlichen Stückes der Kurve liegt, gehört schon zur genaueren Beschreibung.

Nun ist ohne weiteres ersichtlich, daß die erste Gruppe der Tretbahnversuche, die überhaupt nur Lasten bis zu 36 kg aufweist, eine Abhängigkeit des Umsatzes von der Last nicht hervortreten läßt; und wenn es auch offenbar unmöglich wäre, aus diesen wenigen Versuchsergebnissen auf den genauen Verlauf dieser Beziehung, z. B. auf die Lage des Minimalwertes, zu schließen, so darf doch angenommen werden, daß sich diese Versuche ohne Schwierigkeit der früher abgeleiteten Gesetzmäßigkeit eingliedern lassen werden. Das gleiche gilt auch von der Versuchsgruppe bei 4,7 % Steigung, wo sogar im Zuge des Punktschwarmes das Minimum bei etwa 20 kg Last angedeutet erscheint; die wenigen Werte bei 46 kg Last liegen auch — der Erwartung entsprechend — etwas höher. Auch bei 9,7 % Steigung glaubt man die Lage des Minimums um 20 kg einigermaßen erkennen zu können, und auch hier tritt eine sichere Erhöhung der Umsatzwerte mit der Last nur bei 46 und 56 kg hervor, allerdings wohl in einem stärkeren Maße, als unserer Abhängigkeitsform entspräche. Bei 18 % Steigung, wo die Streuung der Versuchsergebnisse besonders groß erscheint, tritt ein Minimum nicht hervor, und die annähernde Unveränderlichkeit des Umsatzes mit der Last kann wohl nur bis zu 24 kg behauptet werden, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die Versuche bei 36 kg wenig zahlreich sind. Diese Abweichung von unserer Gesetzmäßigkeit gewinnt aber doch noch dadurch an Gewicht, daß auch die Umsatzwerte bei 46 und 56 kg offenbar — an unserer Regel gemessen — abnorm hoch liegen. Ähnliches gilt bei der Versuchsgruppe bei 28 % Steigung. Dort könnte man versucht sein, eine Unabhängigkeit des Umsatzes von der Last nur bis 14 kg gelten lassen zu wollen, wenn nicht die besonders spärlichen Versuche bei 24 und 36 kg auch im Vergleich zu denen bei 46 und 56 kg als ganz ab-

norm hoch zu erkennen wären. Die erwartungswidrig starke Überhöhung der Umsatzwerte bei der hohen Last gegenüber der niedrigen ist ja auch hier vorhanden, jedoch unverkennbar in geringerem Maße als in der Versuchsgruppe mit 18 % Steigung, was um so wichtiger erscheint, als man aus dem Verhalten der drei Versuchsgruppen bei 4,7, 9,7 und 18 % Steigung darauf hätte schließen können, daß die zunehmende Steigung diese Abweichung von unserer hypothetischen Erwartung wesentlich erhöht, was nunmehr nur noch in geringerem Maße etwa als geltend angenommen werden darf. In der Versuchsgruppe bei 35 % Steigung, die allerdings nicht sehr zahlreich ist, findet sich nun bis zu 36 kg kein sicherer Einfluß der Last, wodurch es auch wieder zweifelhaft wird, ob das in den zwei vorigen Gruppen auftretende Zurückweichen dieser Grenze nicht bloß ein scheinbares, durch zufällige extreme Lagen der wenigen dafür maßgebenden Werte ist. Die Überhöhung der zwei Umsatzwerte bei 46 kg über den Durchschnitt der übrigen ist in der 35 %-Gruppe wieder ähnlich groß wie bei der 18 %-Gruppe. Was endlich die Versuche bei 39 und 42 % Steigung anlangt, so sind sie offenbar überhaupt zu wenig zahlreich und im Ergebnis zu sehr schwankend, um daraus Schlüsse über das Verhalten einer etwaigen Funktionsbeziehung ableiten zu können; Versuche mit mehr als 36 kg Last fehlen gänzlich. Immerhin geht aus dem Verhalten der Werte hervor, daß bis zu 36 kg Last auch bei diesen steilen Steigungen ein besonders starker Einfluß der Last auf den Umsatz nicht vorliegen kann.

Im ganzen lehrt diese überblickende Betrachtung also, daß zwar die Vermutung einer mit der Steigung wechselnden Abhängigkeit des Umsatzes von der Last durch manche Erscheinungen zu begründen ist, daß aber der Unterschied dieser Funktionen, selbst für höhere Steigungen, immer nur ein geringfügiger, durch die vorliegenden Versuchsdaten kaum zuverlässig faßbarer sein kann. Die Veränderungen der Lastfunktionskurven des Umsatzes mit der Steigung hätte offenbar in dem Sinne zu erfolgen, daß, je höher die Steigung wird, das Lastoptimum allmählich immer mehr sinkt und der Zuwachs des Umsatzes mit den darüber hinangehenden Lasten immer mehr wächst. Bei der Geringfügigkeit und Unsicherheit dieser Verschiebungen erscheint es wenigstens zunächst zweckmäßig, in der weiteren

Betrachtung von diesen vermutbaren Einflüssen abzusehen und schlechthin die Annahme zu machen, daß die für den Horizontalmarsch gefundene Abhängigkeit von der Last auch für den Steigmarsch die einzige in Betracht kommende Abhängigkeit sei, daß also die Form der Funktionskurve (Fig. 2 unserer früheren Arbeit) in allen Versuchsgruppen verschiedener Steigung identisch wiederkehre. Wir legen damit — graphisch betrachtet — in den Punkteschwarm eines jeden der 8 Blätter in Fig. 2 (dieser Arbeit) eine Kurve der genannten Form hinein und betrachten die Unregelmäßigkeit der Streuung der Einzelpunkte um diese Kurven als eine zufällige.

Mit der Aufstellung dieser beiden vorläufigen Annahmen: Unabhängigkeit des Umsatzes von der Geschwindigkeit und identische Abhängigkeit von der Last für alle Steigungen kann auch die eigentlich rechnerische Bearbeitung des Materials einsetzen. — Zunächst sind diese Annahmen selbst zahlenmäßig zu überprüfen. Geht man nun von der Vorstellung aus, daß beim Steigversuche jeder pro Kilogramm und Meter Weg aufgewendete Umsatz notwendig größer als die Wegkonstante ist, so erscheint es erlaubt, in der Differenz vom Umsatz auf ansteigender Bahn (U_a) und der Wegkonstante (U_h) eine neue, vereinfachte Variable, den Mehrumsatz infolge des Steigens ($U_m = U_a - U_h$) zu berechnen, der offenbar mit der Steigung stark zunimmt und nach den obigen Annahmen sowohl von der Geschwindigkeit als auch von der Last unabhängig sein soll. Als Wegkonstanten für den horizontalen Marsch sind hier diejenigen Werte einzusetzen, die der oben angeführten, in unserer früheren Arbeit ermittelten Funktion entsprechen. Die Zahlen finden sich in jener Arbeit in Tab. II Stab 9. Ordnet man dann innerhalb jeder Gruppe verschiedener Steigung die Einzelwerte einmal nach der Geschwindigkeit, das anderemal nach der Last, so erhält man nach Mittelung[1]) der für angenähert gleiche Koordinaten vorliegenden Werte die in der Tabelle I und II wiedergegebenen Zahlen, denen in Klammern die Anzahl der zugrunde liegenden Einzelversuche angefügt ist.

[1]) Genau genommen müßten die Einzelwerte gruppenweise verglichen werden. Das Resultat ist auch in diesem Falle kein anderes; die Darstellung würde aber damit unübersichtlich.

Tabelle I.

Mittlere Mehrumsätze bei Versuchsgruppen gleicher Steigung und verschiedener Marschgeschwindigkeit. In Klammern die Zahl der Einzelversuche.

Geschwindigkeit (annähernd)	0	4,7 %	10 %	18 %	28 %	35 %
12	—	—	0,811 (9)	1,153 (14)	2,259 (21)	3,379 (10)
23	—	[0,333 (6)]	0,515 (12)	1,334 (17)	2,378 (25)	3,538 (6)
32	−0,026 (2)	0,216 (10)	0,519 (16)	1,576 (12)	2,495 (9)	3,076 (4)
44	—	—	0,589 (11)	1,187 (7)	2,465 (4)	—
52	0,003 (13)	0,208 (4)	—	—	—	—
Mittel	−0,001 (15)	0,214 (14)	0,589 (48)	1,321 (50)	2,359 (59)	3,366 (20)

Tabelle II.

Mittlere Mehrumsätze bei Versuchsgruppen gleicher Steigung und verschiedener Last. In Klammern die Zahl der Einzelversuche.

Last kg	Steigung							
	0	4,7%	10%	18%	28%	35%	39%	42%
3	0,008 (4)	0,250 (4)	0,549 (8)	1,141 (12)	2,216 (23)	3,260 (6)	4,370 (2)	4,605 (2)
14	−0,003 (6)	0,195 (4)	0,504 (7)	1,165 (11)	2,267 (15)	3,158 (6)	4,420 (2)	5,330 (2)
24	0,000 (4)	0,245 (2)	0,493 (7)	1,319 (11)	2,571 (7)	3,215 (4)	—	4,630 (2)
36	−0,020 (1)	0,195 (2)	0,667 (10)	1,470 (6)	2,618 (6)	3,200 (2)	—	4,960 (2)
46	—	0,205 (2)	0,633 (9)	1,556 (6)	2,575 (4)	3,825 (2)	—	—
56	—	—	0,653 (7)	1,713 (4)	2,560 (4)	—	—	—
Mittel	−0,001 (15)	0,214 (14)	0,589 (48)	1,321 (50)	2,360 (59)	3,271 (20)	4,483 (4)	4,878 (4)

Eine Betrachtung der einzelnen Zahlenreihen dieser Tabellen lehrt nun, ob und inwieweit die obigen Annahmen zutreffen. — Was zunächst die bei der Steigung Null auf der Tretbahn gewonnenen Werte anlangt, die selbstverständlich überhaupt keinen Mehrumsatz gegenüber den Ergebnissen auf freier ebener Bahn erwarten lassen, so sind dort die Differenzen der Mittelwerte tatsächlich sehr klein und teils positiv, teils negativ gerichtet; das Gesamtmittel beträgt — 0,001 cal, also hier eine Größe, die vernachlässigbar klein ist. Durch genauen Vergleich der Einzelwerte (Tabelle I bei Brezina und Kolmer, diese Arbeit, II. Teil) mit den zu erwartenden Mittelzahlen (siehe unsere frühere Arbeit, diese Zeitschr. 63, 175, Tabelle II Stab 9) ist festzustellen, daß nur 2 Versuchsresultate von allen 15 vorliegenden um mehr als den mittleren Fehler der Einzelbestimmung (± 0,027 cal), und zwar nach verschiedenen Seiten, abweichen. Es ist also auch die Streuung dieser auf horizon-

taler Tretbahn gewonnenen Werte eine erwartungsgemäße und ihre völlige Übereinstimmung mit den auf freier Bahn gewonnenen Werten rechtfertigt die Heranziehung dieser letzteren in die vorliegende Betrachtung; die ersteren Werte wären natürlich weder ausreichend stark nach der Last variiert, noch ausreichend zahlreich, um aus ihnen eine Lastfunktion ableiten zu können. Die Feststellung ist auch für sich betrachtet wichtig, daß die unter entsprechenden Bedingungen ausgeführten Versuche auf freier Bahn und auf der künstlichen Bahn des Göpels identische Werte liefern; auch die Widerstände der kleinen Gasuhr üben offenbar keinen anderen Einfluß auf die Höhe des Umsatzes aus als die der großen.

Die bei schräger Tretbahn gewonnenen Werte, die von nun an allein betrachtet werden sollen, dürften, wenn unsere Annahmen strenge gelten sollten, in den vertikalen Reihen der Tabelle I und II keine Korrelation mit der wachsenden Geschwindigkeit und Last hervortreten lassen. In Tabelle I ist die geforderte Konstanz der Zahlenreihen bei variierter Geschwindigkeit im großen und ganzen recht deutlich zu erkennen, so daß also unsere erste Annahme danach zu Recht besteht. Die vorhandenen Schwankungen der Zahlen sind größtenteils offenbar unregelmäßige. Sicher kann ein Ansteigen des Mehrumsatzes bei den höchsten beobachteten Geschwindigkeiten ausgeschlossen werden. Hingegen zeigt sich bei den Versuchen mit schwach geneigter Tretbahn bei den geringsten Geschwindigkeiten der bekannte umsatzerhöhende Einfluß der sogenannten Bremsarbeit. Am größten ist diese relative Abweichung bei der Neigung 4,7 % und bei ca. 23 m Geschwindigkeit. Wie ein Blick in die Tabelle II der vorigen Arbeit lehrt, weisen hier sämtliche 6 Einzelversuche ziemlich gleichmäßig die höheren Werte auf. Es erscheint somit berechtigt, diese kleine Gruppe von Versuchen bei ganz extremen Bedingungen als mit den übrigen unvergleichbar von der weiteren Betrachtung auszuschalten, was auch schon bei Ziehung der allgemeinen Mittel in Tabelle I und in Tabelle II geschehen ist. Minder groß ist jene relative Abweichung bei dem Mittel der langsamsten Versuche bei 10 % Neigung, und, da hier die Einzelversuche starke Schwankungen ergeben, so wäre es nicht möglich, ohne Willkür Ausschaltungen vorzunehmen.

Aus der Tabelle II ist das Fehlen einer Korrelation der Mittelwerte zur Last nicht mit gleicher Sicherheit zu entnehmen. Wir stoßen hier auf dieselbe Schwierigkeit, wie schon bei der überblickenden graphischen Betrachtung; besonders bei 18 $^0/_0$ Steigung ergibt sich eine anscheinend regelmäßige Zunahme des Mehrumsatzes mit der Last. Die Geringfügigkeit ähnlicher Erscheinungen bei den steileren Steigungen läßt jedoch diese Regelmäßigkeit in der Hauptsache als scheinbar erkennen und macht ein rechnungsmäßiges Erfassen derselben fast undurchführbar. In welcher Richtung sich eine solche zu bewegen hätte, soll später noch erörtert werden. Hier muß die Feststellung genügen, daß der von dieser mutmaßlichen Abhängigkeit hervorgerufene Ausschlag in den Versuchsergebnissen kein genügend starker ist, um zunächst ein Abgehen von der einfachsten Annahme der Unabhängigkeit zu rechtfertigen.

Erscheint somit mit einigem Vorbehalt auch die zweite vorläufige Annahme durch die zahlenmäßige Betrachtung als gestützt, so erleichtert die Anwendung dieser beiden Annahmen naturgemäß das weitere Vorgehen ungemein: Es bleibt zu versuchen, die Mehrumsatzgröße als alleinige Funktion der Steigung darzustellen. Würde dies nicht gelingen, so wären eben die beobachteten unabhängigen Variablen: Last, Geschwindigkeit und Steigung keine ausreichenden Bedingungen der beobachteten abhängigen Größe des Umsatzes.

Um die Form dieser vorausgesetzten Funktion zu finden, erscheint es zunächst als erlaubt, alle bei gleicher Steigung gewonnenen Versuchsergebnisse zu mitteln und diese Mittelpunkte mit der Zahl der Versuche als Gewicht zu behaften. Allerdings finden sich unter den Versuchen viele, die nur mit f a s t gleicher Steigung angestellt sind, und ihre Mittelung wäre in diesem Falle streng genommen nicht statthaft; sie kann jedoch immerhin als zulässig gelten, weil dadurch die Rechnung bezüglich der Hauptresultate nicht wesentlich alteriert wird. Natürlich müssen in diesen Fällen auch die Steigungen der Versuche genau gemittelt werden, so daß also an Stelle jedes Schwarmes von Punkten e i n solcher, und zwar ihr Schwerpunkt, mit dem Gewicht der gemittelten Punktezahl tritt. In Tabelle III erscheinen zunächst diese genaueren mittleren Steigungen, die Versuchszahl jeder Steigungsgruppe

und die Mittelwerte selbst, sodann in Stab 4 die mittleren Fehler der Einzelversuche für jede Gruppe, in Stab 5 die mittleren Fehler der Mittel. In Fig. 3 sind die Mittelwerte in einem Mehrumsatz-Steigungs-Koordinatensystem durch Kreuze, ihre mittleren Fehler durch Punkte angegeben; in das zweifache Intervall dieses Fehlers um den Mittelwert muß die Funktionskurve zu liegen kommen, wenn sie die vorliegenden Tatsachen ausreichend beschreiben soll.

Tabelle III.
Abhängigkeit des Mehrumsatzes von der Steigung.

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
Mittlere Steigung (sin α)	Zahl der Versuche	Mittlerer Mehrumsatz	Mittlerer Fehler d. Einzelversuche	Mittlerer Fehler der Mittelwerte	Berechneter Mehrumsatz nach der 1. Näherungsannahme	Beste Berechnung $U_m = 13{,}32 \sin^{1,35} \alpha$
0,0470	14	0,214	± 0,036	± 0,010	0,221	0,215
0,0965	48	0,589	± 0,175	± 0,025	0,576	0,567
0,1804	50	1,317	± 0,311	± 0,044	1,326	1,319
0,2787	59	2,354	± 0,230	± 0,030	2,367	2,379
0,3503	20	3,268	± 0,270	± 0,060	3,210	3,234
0,3880	4	4,395	± 0,100	± 0,050	3,678	(3,710)
0,4200	8	4,756	± 0,513	± 0,181	4,088	(4,129)

Es ist aus dem Bilde ohne weiteres klar, daß die gesuchte Kurve, die natürlich durch den Nullpunkt des Koordinatensystems geht, keine gerade, sondern eine leicht gekrümmte, gegen die Steigungsachse konvexe Linie sein muß. Die einfachste mögliche Annahme wäre die, daß eine gerade Proportionalität zwischen den betrachteten Größen besteht; gilt diese nicht

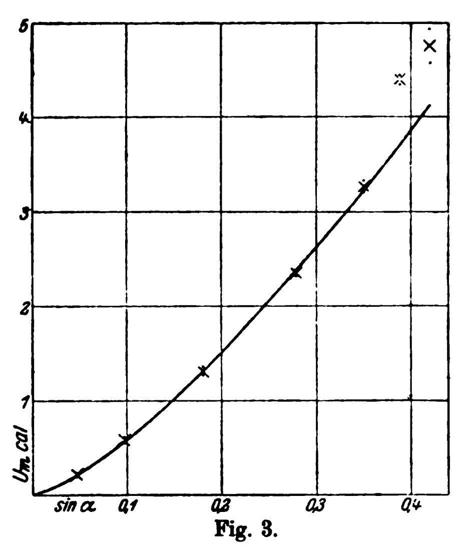


Fig. 3.

für die Größen selbst, d. h. für ihre ersten Potenzen, wie es für eine gerade Linie zuträfe, so darf sie zunächst als

geltend für irgendwelche andere Potenzen derselben erachtet werden; mit anderen Worten: es handelt sich anscheinend um eine Parabel irgendeiner Ordnung. Das nächst einfache Potenzenverhältnis $^2/_1$, wie es für die gemeine Parabel gilt, erscheint von vornherein als zu groß. Der Exponent, der, nach der Krümmung zu schließen, der Steigungskoordinate zukommen müßte, hätte also zwischen 1 und 2 zu betragen. Der Einfachheit halber wird die Zahl zunächst womöglich als ein Verhältnis zweier niedrigen Ganzzahlen anzunehmen sein. Der Wert 1,5 ($= {}^3/_2$) scheint tatsächlich für das ganze Material am besten zu passen, doch weicht die so zu berechnende Kurve — etwa: $U_m = 17 \sin^{1,5} \alpha$ [1]) — in mehreren gut gestützten Punkten um wesentlich mehr als den mittleren Fehler (Tabelle III Stab 5) von den gefundenen Mittelwerten ab; sie erscheint also nicht als ein befriedigender Ausdruck der Tatsachen. — Die beiden bestgestützten Werte bei 18 und 28 % Neigung ergeben recht nahe die nächst einfache Parabel mit dem Exponenten $1,333 = {}^4/_3$ in der Form

$$U_m = 13 \sin^{1,333} \alpha.$$

Die danach berechneten Werte (Tabelle III Stab 6) weichen für alle Steigungen bis einschließlich 35 % um weniger als den mittleren Fehler (Stab 5) von dem Befunde (Stab 3) ab, so daß die Kurve, die auch in Fig. 3 gezeichnet ist, in diesem Bereich einen guten Ausdruck der Tatsachen vorstellt. Die beiden wenig gewichtigen Werte bei 39 und 42 % weichen davon allerdings stark nach oben zu ab, d. h. der Umsatz ist hier, nach dieser Rechnung beurteilt, zu groß gefunden worden. Es erscheint nun nicht als zweckmäßig, wegen dieser extremen 12 Versuche das ganze Material einer anderen, komplizierteren Berechnung zu unterziehen. Wir beschränken also unsere Darstellung auf den Bereich bis zu 35 % Steigung, in dem 191 Steigversuche liegen, und glauben, daß über das Verhalten des Umsatzes jenseits dieser Grenze aus den wenigen Versuchen überhaupt nichts Sicheres auszusagen sein dürfte. Zu dem letzteren

[1]) Wir haben auf der Naturforscherversammlung in Wien 1913 diese erste Näherungsgleichung als Darstellung des Gesamtmaterials gegeben. Die folgende mathematisch präzisierende Fassung führt nicht zu wesentlich verschiedenen Schlußfolgerungen.

Urteil führt uns insbesondere die Tatsache, daß, wie aus Fig. 3 ersichtlich, die Abweichung des Punktes bei 42% von der gezeichneten Parabel $^4/_3$-ten Grades wesentlich kleiner ist als die des Punktes bei 39%. Es stecken also in diesen extremen Versuchen, wie auch die große Schwankungsbreite ihrer Ergebnisse lehrt, offenbar viele grobe Fehler, so daß ihre Ausschaltung vollberechtigt erscheint.

Die obige Gleichung darf also als ein zulässiger Ausdruck der Tatsachen gelten. Die auf dieser Näherungsannahme fußende weitere Ausgleichsrechnung lehrt nun wieder, wie der beste solche Ausdruck dafür zu lauten hat und welche Genauigkeit dieser Feststellung zukommt. Die Rechnung[1]) ergibt als verbesserte Gleichung:

$$U_m = 13{,}32 \sin^{1{,}350} \alpha.$$

Der Proportionalitätsfaktor heißt danach:

$$C = 13{,}32 \pm 0{,}40$$

und der Exponent

$$K = 1{,}350 \pm 0{,}023.$$

Diese Konstanten sind also durch die vorliegenden Versuche recht genau bestimmt und ihre besten Werte weichen von

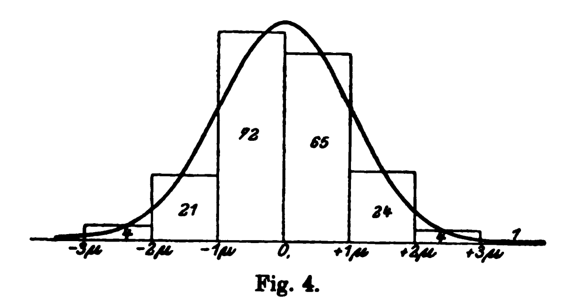


Fig. 4.

unseren Näherungsannahmen nur unerheblich ab. Der mittlere Fehler der Einzelergebnisse ergibt sich aus dieser Rechnung, wegen der nicht ganz zulässigen Zusammenziehung der Punkte etwas zu niedrig ($\pm$ 0,156 cal); er muß richtig aus der Fehlerquadratsumme der Einzelwerte gewonnen werden und lautet dann: $\pm$0,243 cal, was mit $\pm$0,227, dem Durchschnitt der

[1]) Bezüglich des eingehaltenen Rechenverfahrens verweisen wir auf unsere frühere Arbeit (diese Zeitschr. 63, 176, Anm. 1).

mittleren Fehler für die Einzelgruppen (Tabelle III Stab 4) gut übereinstimmt. Die Streuung der Einzelfehler, die in Fig. 4 zur Darstellung gebracht ist, entspricht der Erwartung überall gut [1]).

Es ist somit nach allen Anforderungen, die an eine exakte Darstellung gestellt werden können, die obige Gleichung oder ihre gekürzte Form, die wir auch als Näherungsgleichung in die Rechnung einführten, als Ausdruck aller Beobachtungen in den angegebenen Grenzen erwiesen: Der Mehrumsatz kann im betrachteten Bereich wirklich als eine eindeutige Funktion der Steigung aufgefaßt werden, und zwar erweist sich die 3. Potenz des Mehrumsatzes der 4. Potenz der Steigung gerade proportional. — Damit ist auch die Möglichkeit gegeben, den gesamten Umsatz bei bekannter Last und Steigung im vorhinein mit der genannten Genauigkeit zu berechnen, vorausgesetzt, daß sich diese Variablen und die Geschwindigkeit innerhalb der hier untersuchten Grenzen halten. Naturgemäß gilt die Gesetzmäßigkeit nur eben für diese Methodik der Feststellung des Umsatzes und vorerst nur für unsere Versuchsperson; genauere Feststellungen würden zweifellos Abhängigkeiten hervortreten lassen, die hier durch die zufälligen Abweichungen überdeckt sind.

Hierzu gehört vor allem die oben vermutete Abhängigkeit des Mehrumsatzes von der Last. Eine verhältnismäßig einfache Beschreibung dieses Einflusses erschiene möglich, wenn sich die Steigungsfunktion des Mehrumsatzes innerhalb jeder Lastgruppe, also jede einzelne horizontale Reihe von Mittelwerten in Tabelle II, durch eine gleichartige Beziehung wie die Reihe der Gesamtmittel ausdrücken ließe, in der nur etwa die Konstante C einen der Last proportionalen Zuwachs erführe. Die ganz grob schätzungsweise Durchführung einer solchen Berechnung ergibt für das vorliegende Material als Grundwert der Größe C bei der Last Null etwa 12 (gegenüber 13 für die Gesamtmittel) und einen Zuschlag von 0,06 L. Die Gleichung für den Mehrumsatz hätte dann zu lauten:

$$U_m = (12 + 0{,}06\, L) \sin^{\frac{4}{3}} \alpha$$

und für den gesamten Steigumsatz, da $U_a = U_h + U_m$, folgendermaßen:

$$U_a = 0{,}5 + \frac{(L - 19)^2}{10\,000} + (12 + 0{,}6\, L) \sin^{\frac{4}{3}} \alpha .$$

[1]) Auch in bezug auf diese Darstellungsart verweisen wir auf unsere frühere Arbeit (diese Zeitschr. 63, 176, Anm. 2).

Es ist leicht einzusehen, daß in dieser Funktion der zunächst umsatzvermindernde Einfluß der wachsenden Last, der sich im 2. Gliede ausspricht, durch den von vornherein umsatzvermehrenden Einfluß der Last im 3. Gliede bei um so kleineren Lasten kompensiert wird, je steiler die Steigung ist, und daß ferner nach dieser Gleichung nur sehr hohe Lasten bei sehr steilen Steigungen wesentliche Umsatzerhöhungen über dasjenige Maß hinaus erwarten lassen, das sich aus der einfacheren, oben angenommenen Funktionsbeziehung ergibt. Das sind aber dieselben Eigentümlichkeiten, die sich für die Lastfunktionskurven der Umsatzwerte schon aus der allgemeinen Betrachtung des Zahlenmaterials als vermutbare Abweichungen von der Lastfunktionskurve beim Horizontalmarsch ableiten ließen: mit zunehmender Steilheit der Steigung — Sinken des Lastoptimums und immer stärkerer Anstieg des Umsatzes mit den höheren Lasten.

Wenn danach nun auch angenommen werden darf, daß die obige kompliziertere Funktionsgleichung tatsächlich ein besseres Bild der Beobachtungen ergeben würde als die einfachere, so geht doch andererseits aus der geringen Größe der etwa einzuführenden Änderungen im Vergleich zur allgemeinen Schwankungsbreite der Ergebnisse hervor, daß das vorliegende Zahlenmaterial eine solche Spezialisierung der Einflüsse nicht gestattet, d. h. daß so durch einen unverhältnismäßigen Aufwand von Berechnungen nur eine Aussage von sehr geringer Sicherheit erreicht werden könnte. — Es muß also bis auf weiteres bei der oben angegebenen einfachen Darstellungsform bleiben.

Mit der Aufstellung einer eindeutigen Funktionalbeziehung zwischen den beobachteten Umsatzwerten und ihren Bedingungen erscheint unsere induktive Aufgabe als gelöst. Für alle weiteren anzustellenden Betrachtungen über dieses Versuchsmaterial ist eine Rücksichtnahme auf die Einzelversuche unnötig; die wichtigsten Folgerungen können und sollen nunmehr aus der gefundenen Zusammenfassung deduziert werden.

Die beiden Sätze von der Einflußlosigkeit von Last und Geschwindigkeit auf den Mehrumsatz, der pro Kilogramm und Meter Weg durch die Steigung bedingt wird, könnten zunächst in ihnen Konsequenzen für die Praxis überraschen; es soll danach keine Gefahr vorliegen, durch zu schnelles Steigen oder durch zu schwere Lasten beim Steigen Körperkräfte zu verschwenden. Dem steht anscheinend die gemeine Erfahrung entgegen, daß eine gegebene Steigaufgabe nicht mit zu schwerer Last und nicht in zu raschem Marschtempo unternommen werden darf, wenn nicht bald Erschöpfung der Kräfte drohen soll. Es ist jedoch zu berücksichtigen, daß der obige Satz eben nur

für die in den vorliegenden Versuchen gegebene Variationsbreite der Bedingungen gilt, wobei ein Überschreiten der normalen Grenzen der Leistungsfähigkeit von vornherein gar nicht angestrebt wurde; ferner, daß der Satz bezüglich der Last auch in diesem Gebiete nach dem oben dargelegten nur angenähert gilt, während in Wahrheit vermutlich bei höheren Steigungen schon mit niedrigeren Lasten optimal, und mit hohen Lasten immer unökonomischer marschiert wird. Immerhin sind aber die letztgenannten Lasteinflüsse sicher als nur geringfügig zu betrachten, und die Versuchsperson hatte bei mehreren der steileren, dabei schnelleren oder stärker belasteten Märsche den subjektiven Eindruck starker Anstrengung, so daß angenommen werden darf, daß das Feld normaler Leistungsfähigkeit in diesen Versuchen nach allen Richtungen so ziemlich durchmessen wurde, ohne daß es durch die Anstrengung selbst zu einer wesentlichen Beeinträchtigung der Ökonomie gekommen wäre, wenn man von den Mehrkosten absieht, die die wirklich hohen Lasten immer, auch beim Horizontalmarsch, für den Körper mit sich bringen.

Dieses Ergebnis erscheint immerhin in ähnlichem Maße überraschend und bemerkenswert, wie die ganz analoge Feststellung in unserer früheren Abhandlung, daß beim Horizontalmarsch der Wert der ökonomischen Maximalgeschwindigkeit von der Belastung innerhalb weiter Grenzen nicht sicher abhängt. Hier wie dort muß zum Verständnis angenommen werden, daß die Überanstrengung nicht an der Unökonomie, d. h. an dem hohen relativen Umsatz für die Arbeit, sondern an der Leistung, d. h. an dem hohen absoluten Umsatz in der Zeiteinheit hängt. Unökonomie führt ja sicher am leichtesten zur Überanstrengung, weil sie sich bloß durch subjektive Unlustempfindungen, nicht durch objektive Leistungsgrößen bemerkbar macht. Die Überanstrengung kann aber offenbar sehr wohl durch völlig ökonomisch ausgenützten Mehrumsatz zustande kommen: wenn beim Steigen und Lasttragen eine gewisse absolute Grenze des Umsatzes pro Minute erreicht ist, so kann die Geschwindigkeit nicht ohne subjektive Überanstrengung vermehrt werden, wenn sie es auch noch ohne objektive Ökonomiestörung könnte. Es ist zu vermuten, daß, wenn es doch geschähe, die Arbeit schon bei mäßiger weiterer Erhöhung der Geschwindigkeit unökonomisch

vor sich ginge, d. h. daß die Grenze der ökonomischen Maximalgeschwindigkeit für den Steigenden tatsächlich viel niedriger liegt als für den eben Gehenden, und es wäre gewiß von Interesse, diese Abhängigkeit zu kennen. Vielleicht ist es überhaupt nur bei horizontalem oder schwach geneigtem Marsch möglich, die Grenze soweit zu überschreiten, daß sie und das Verhalten des Umsatzes hinter ihr erkennbar wird. Vielleicht würde dies einer besonders trainierten Versuchsperson doch auch bei stärkeren Steigungen gelingen. Jedenfalls gibt unser Material hierüber keine Auskunft, da eben die Grenze nirgends sicher überschritten ist.

Es könnte auch daran gedacht werden, daß vielleicht ein bestimmter physikalischer Effekt nicht ohne Ökonomiestörung überschritten werden kann, unabhängig davon, ob nun dieser Effekt durch besonders hohe Lasten, Geschwindigkeiten oder Steigungen zustande kommt. Unser Material spricht aber nicht für eine solche Auffassung, da sich eine besondere Höhe der Umsatzwerte fast durchweg aus den stetigen Änderungen des Umsatzes mit Last und Steigung erklären läßt. Die wenigen, wegen allzu hoher Lage ausgeschalteten Werte bei 39 und 42 % Steigung weisen gar keine besonders hohen Effektgrößen auf. Es erscheint aber auch für etwaige neue Versuche nicht aussichtsvoll, zu einer solchen einheitlichen Grenze des mit normaler Ökonomie erzielbaren Effektes zu gelangen, weil die Arbeiten des Steigens und des Lasttragens für den Körper zu unähnlich sind, als daß erwartet werden dürfte, daß sie sich in ihrer Wirkung nach dem physikalischen Äquivalent vertreten könnten. Dazu kommt, daß die Betrachtung des physikalischen Effektes immer entweder eine lückenhafte oder eine hypothetische sein muß, weil wir ja den physikalischen Arbeitswert der Geharbeit nicht kennen, und also entweder vernachlässigen oder nach der Umsatzgröße (der Wegkonstante) und einem willkürlich angenommenen Wirkungsgrad schätzen müssen. Es empfiehlt sich nach allem nicht, die Effektgrößen irgendwie als Maß der beobachteten Umsatzwerte in die Betrachtung hineinzuziehen.

Die allgemeine Form der Funktionsgleichung zwischen Mehrumsatz und Steigung besagt, daß der Mehrumsatz für geringe Steigungen relativ gering, für die geringsten Steigungen sogar verschwindend gering ist, und daß die Umsatzerhöhung für gleiche Steigungszunahmen sich einem bestimmten Höchstwerte um so mehr nähert, je stärker die Steigung ist. Diese Erscheinung kann ohne Schwierigkeit so gedeutet werden, daß die Geharbeit ja auf ebener Bahn eine gewisse Hubleistung in sich schließt, die für die Bewältigung einer Steigung zum Teil verwertet werden kann. Geringe Steigungen werden von ihr fast

völlig bestritten, bei höheren verschwindet ihr Einfluß allmählich mehr und mehr. Es entspricht auch der gemeinen Erfahrung, daß der Fußgänger ganz geringe Steigungen des Weges zunächst nicht merkt oder nicht als lästig empfindet, während z. B. der Radfahrer, in dessen Bewegungstypus eine Hubkomponente fehlt, dafür eine weit schärfere Empfindung besitzt. Auf die Verschiebung des Marschtypus bei wachsender Steigung hat besonders Jéndrassik (Engelm. Arch. 1904) hingewiesen. Der Hauptunterschied zwischen Marsch auf ebener und steigender Bahn ist nach diesem Autor der, daß beim Steigen die Phase, während welcher der Körper von beiden Beinen gestützt wird, relativ länger dauert. Durch Selbstbeobachtung ist auch leicht zu konstatieren, wie beim Marsch auf gut gebahntem, schwach ansteigendem Wege der Marschtypus der Ebene bei Zunahme der Steigung in den Typus des Steigmarsches übergeht; ja bei geringen Neigungswinkeln ist es ganz wohl möglich, bald mehr den einen, bald mehr den anderen Typus beizubehalten. Beim Horizontalmarsch sinkt der Körper von der gewonnenen Höhe wieder herab, beim Steigmarsch wird dies verhindert, wobei die Unterstützung des Körpers durch beide Beine relativ länger dauert.

Eine ganz grobe Schätzung jener Hubkomponente der Geharbeit erscheint auf Grund unserer Gleichung möglich: Je stärker die Wegneigung, desto weniger wird die Größe des Mehrumsatzes von der Geharbeit beeinflußt. Bei der stärksten Neigung, auf die sich unsere Darstellung erstreckt, d. h. bei 35 $^0/_0$, beträgt der Mehrumsatz etwa 3,2 cal, also das 6,4 fache der Wegkonstante. Wollte man annehmen, daß die Hubleistung die einzige Quelle des Umsatzes für den ebenen Marsch sei, und daß die Arbeit in beiden Fällen mit gleicher Ökonomie geleistet werde, so ergäbe sich eine Hubleistung von 0,35 : 6,4, also 0,055 mkg pro Kilogramm und Meter Weg; das heißt, das Körpergewicht müßte bei ebenem Gehen entlang 1 m um 5,5 ccm gehoben werden.

Am wenigsten müßte der Mehrumsatz von der Gehbewegung bei senkrechter Steigung abhängen. Wäre unsere Gleichung dort noch anwendbar, so würde der Mehrumsatz rund 13 cal, also das 26 fache der Wegkonstante ausmachen; danach wäre die Hubleistung der Geharbeit pro Meter und Kilogramm mit

1 : 26 = 0,04 mkg zu schätzen, was von dem oben gefundenen Wert nicht allzusehr abweicht. Beide Werte treffen wegen der unerlaubten Annahmen sicher nicht genau zu, sind aber der Größenordnung nach glaubhaft, da die Hebung des Körpers beim Gehen auch nach anderen Methoden in ähnlicher Größe bestimmt wurde.

Von besonderem Interesse erscheinen die Schlußfolgerungen, die sich bezüglich der Ökonomie des Steigens aus unseren Ergebnissen ableiten lassen.

Seitdem Zuntz gelehrt hat, den respiratorischen Gaswechsel des Arbeitenden in verhältnismäßig einfacher Weise zu bestimmen, sind zahlreiche Untersuchungen auch des Umsatzes beim Steigmarsch veröffentlicht worden. Wenn nun auch diese bisher vorliegenden Ergebnisse mehrfach in Handbüchern zusammenfassend dargestellt sind, so erscheint es uns doch nötig, sie hier nochmals in einer mit den unseren vergleichbaren Übersicht wiederzugeben. Die einzelnen Arbeiten, in denen diese Befunde zerstreut sind, verfolgen nämlich nicht allein und in erster Linie den Zweck, die Umsatzgrößen für den Steigmarsch festzulegen, sondern es sollen dort hauptsächlich die Einflüsse der Ermüdung, der Übung, der Ernährungsweise und des Höhenklimas untersucht werden. Dazu genügt es offenbar, die Unterschiede der Umsatzwerte bei ein und derselben Versuchsperson unter variierten Bedingungen in Betracht zu ziehen. Die Berechnung der Ergebnisse ist schon aus diesem Grunde nicht überall gleichmäßig durchgeführt, was den Überblick erschwert. Zum Zwecke des Vergleiches haben wir in Tabelle IV alle jene Steigmarschversuche, die in Betracht zu kommen schienen — wobei die Versuche in ermüdetem Zustande, in sehr großer Höhe, auf schneeiger Bahn, mit einseitiger Eiweißkost und unter Alkohokolwirkung wegbleiben mußten — chronologisch zusammengestellt. Es sind im ganzen — außer den 203 neuen Versuchen an Brezina — 427 Einzelversuche an zwanzig verschiedenen Versuchspersonen. Die Ergebnisse für den Arbeitsumsatz aus den zusammengehörigen Versuchen an einer Person sind überall gemittelt und als Calorien pro Kilogramm und Meter Weg angegeben. Besonderheiten der Versuchsbedingungen erscheinen im letzten Stab der Tabelle vermerkt. Der Arbeits-

Tabelle IV.

Vergleich des Ergebnisses aller bisher vorliegenden vergleichbaren Steigmarschversuche.

Autor	Versuchsperson	Zahl der Versuche	sin α	cal pro m u. kg	Anmerkungen
Katzenstein (Arch. f. d. ges. Physiol. 49)	Kohansky	17	0,0078	0,580	Tretbahn
	„	16	0,1078	1,268	„
	Krzywy	3	0,0203	0,905	„
	„	2	0,1107	1,423	„
	Wellnitz	7	0,0144	0,642	„
	„	8	0,1214	1,298	„
	Zimm	2	0,0250	0,589	„
	„	1	0,1114	1,234	„
Zuntz und Schumburg (Physiol. des Marsches)	P.	9	0,0019	0,524	Tretbahn
	„	8	0,0652	1,000	„
	B.	12	0,0019	0,538	„
	„	8	0,0652	1,015	„
Schumburg und Zuntz (Arch. f. d. ges. Physiol. 63)	Schumburg	5	0,3085	3,193	Tretbahn
	„	4	0,6215	5,813	Treppe
	Zuntz	5	0,3170	3,324	Tretbahn
	„	4	0,6835	5,760	Treppe
A. Loewy, J. Loewy u. L. Zuntz (Arch. f. d. ges. Physiol. 66)	A. Loewy	4	0,2360	2,290	Tretbahn
	„	3	0,3208	2,710	„
	„	2	0,3930	3,620	„
	J. Loewy	3	0,2360	2,077	„
	„	4	0,3208	2,780	„
	„	3	0,3930	3,125	„
	L. Zuntz	2	0,2360	2,085	„
	„	4	0,3208	2,575	„
	„	3	0,3930	3,240	„
Frentzel und Reach (Arch. f. d. ges. Physiol. 83)	Frentzel	28	0,2393	2,066	Tretbahn (Fettkost)
	„	35	0,2393	1,980	„ (Kohlenhydrat)
	Reach	24	0,2393	2,119	„ (Fett)
	„	29	0,2393	2,086	„ (Kohlenhydrat)
Zuntz und Mitarbeiter (Höhenklima und Bergwanderungen)	Waldenburg	3	0,1268	1,511	Tretbahn
	„	8	0,2500	2,565	Brienz u. Rothorn
	„	4	0,4500	4,540	Col d'Olen
	Kolmer	8	0,1824	1,763	Tretbahn
	„	17	0,2500	2,226	Brienz u. Rothorn
	Caspari	6	0,1268	1,538	Tretbahn
	„	7	0,2500	2,401	Brienz u. Rothorn
	Müller	4	0,1268	1,382	Tretbahn
	„	2	0,2623	2,709	„
	„	15	0,2500	2,526	Brienz u. Rothorn
	„	4	0,4500	3,417	Col d'Olen
	A. Loewy	7	0,1268	1,353	Tretbahn
	„	15	0,2500	2,573	Brienz u. Rothorn
	Zuntz	10	0,1268	1,374	Tretbahn
	„	6	0,2500	2,284	Brienz u. Rothorn
Durig Arch. f. d. ges. Physiol. 113)	Durig	17	0,2655	2,848	Bilkengrat (vor d. Training)
	„	16	0,2655	2,703	„ (nach „ „)

Tabelle IV (Fortsetzung.)

Autor	Versuchsperson	Zahl der Versuche	sin α	cal pro m u. kg	Anmerkungen
Durig (Denkschriften d. K. Akad. Wiss. 86)	Durig	4	0,1640	1,774	Neuwaldegg
	Kolmer	6	0,1640	1,777	„
	Rainer	7	0,1640	1,719	„
	Reichel	6	0,1640	1,795	„
Brezina und Kolmer (diese Arbeit, II. Teil)	Brezina	14	0,0470	0,714	Tretbahn
	„	48	0,0965	1,089	„
	„	50	0,1804	1,817	„
	„	59	0,2787	2,854	„
	„	20	0,5503	3,768	„
	„	4	0,3880	4,895	„
	„	8	0,4200	4,756	„

umsatz (U_a), also der Gesamtumsatz abzüglich des Ruheumsatzes, aber einschließlich der Horizontalkomponente, wurde deshalb als der bestvergleichbare Wert gewählt, weil die von den Autoren jeweils in Rechnung gestellten Horizontalwerte recht verschieden sind, während nach Durigs[1]) Darlegungen nunmehr angenommen werden darf, daß das horizontale Gehen pro Meter und Kilogramm eine für alle Menschen sehr nahe übereinstimmende Umsatzgröße — bei Vernachlässigung des Lasteinflusses rund 0,55 cal — erfordert. Durig hat auch schon für einen Teil der älteren Versuche gezeigt, wie sehr ihre Ergebnisse für verschiedene Personen durch Einführung dieses Wertes an Ähnlichkeit gewinnen. Durch unsere eigenen Darlegungen erscheint es gerechtfertigt, bei dieser groben Vergleichung den Einfluß von Last und Geschwindigkeit durch die Berechnung pro Kilogramm und Meter Weg auszuschalten, da bei den zu vergleichenden Versuchen nirgends eine besonders schwere Last getragen, noch auch mit forcierter Geschwindigkeit gegangen wurde. Natürlich waren nun auch unsere, d. h. die von Brezina und Kolmer veröffentlichten Steigversuche an Brezina so in Vergleich zu stellen, daß für jede Gruppe an Stelle des in Tabelle III Stab 3 wiedergegebenen mittleren Mehrumsatzes die mittleren Arbeitsumsätze angegeben sind. Dies konnte mit einer für diese Zwecke ausreichenden Genauigkeit durch einfache Vermehrung jener Mittelzahlen um den mittleren Horizontalumsatz dieser Versuchsperson bei mittlerer Belastung — also um 0,5 cal —

[1]) Denkschr. d. kgl. Akad. 86, 295 ff., bes. 306.

geschehen. Am übersichtlichsten gestaltet sich der in der Tabelle zahlenmäßig gegebene Vergleich wieder durch eine graphische Darstellung, die in Fig. 5 versucht ist. Die Flächengröße der in ein Arbeitsumsatz-Steigungs-Koordinationssystem eingezeichneten Punktzeichen ist der Zahl der jedem Mittel zugrunde liegenden Einzelversuche proportional. Bei jedem Zeichen

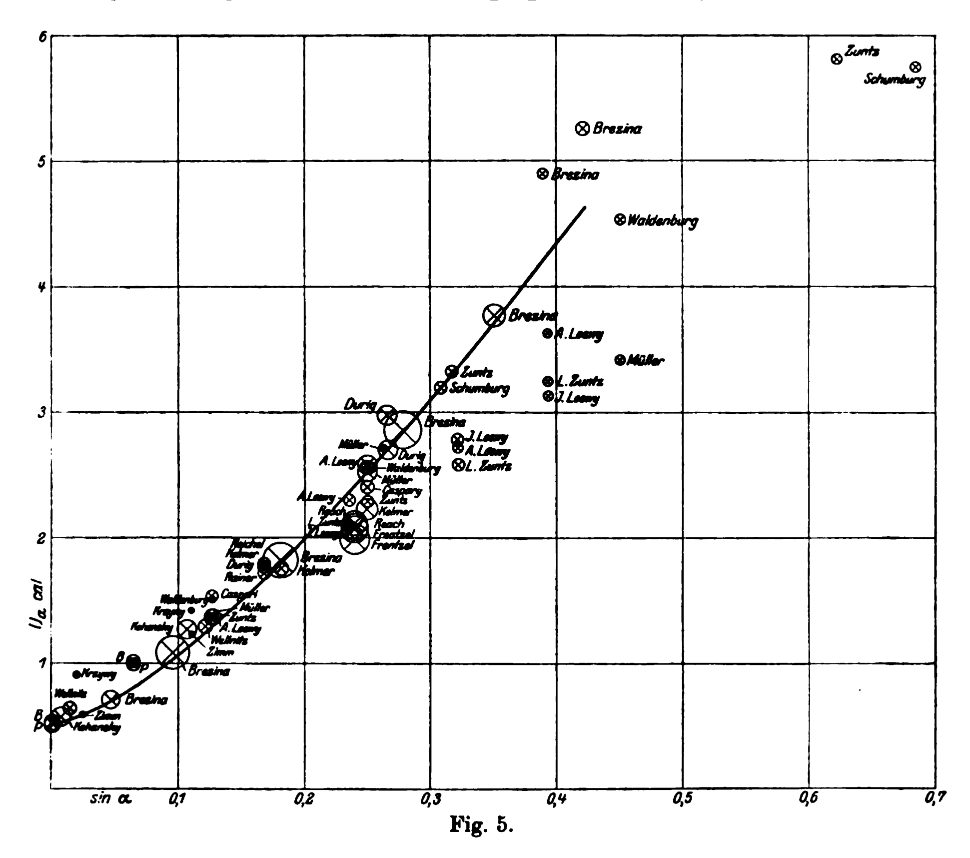


Fig. 5.

steht der Name der Versuchsperson. Die ausgezogene Linie, die mit der der Fig. 3, abgesehen vom Ausgangspunkt, übereinstimmt, entspricht der aus den neuen Versuchen berechneten Abhängigkeit für die optimale Belastung.

Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß die an verschiedenen Versuchspersonen gewonnenen Resultate im großen und ganzen und teilweise sogar sehr weitgehend übereinstimmen. Das letztere trifft insbesondere innerhalb einzelner Gruppen von Versuchen

zu, die in rascher Aufeinanderfolge von ein und denselben Autoren erhoben wurden; so für die Versuche von Zuntz und Schumburg an sich selbst, für die Gruppe Frenzel und Reach, sowie für die Neuwaldegger Versuche Durigs und seiner Mitarbeiter. Diese Erscheinung läßt vermuten, daß das Verhalten verschiedener Personen in Wahrheit ein noch ähnlicheres ist, als es hier — bei Vergleich von Versuchen, die zum Teil um 20 Jahre auseinanderliegen — hervortritt.

Es kann hier nicht erörtert werden, wie etwa solche, wohl z. T. bloß scheinbare Unterschiede der Umsatzgrößen noch aufgeklärt werden könnten; es sei nur darauf hingewiesen, daß vielleicht auch der für den Ruheumsatz jeweils in Rechnung stehende Wert zum Teil an dem Auseinanderfallen der Ergebnisse Schuld trägt, worauf schon Durig aufmerksam gemacht hat. Wahrscheinlich sind eben auch die Größen des Ruheumsatzes für verschiedene Personen in Wahrheit nicht in dem Maße verschieden, als sie bei jedesmaliger Neubestimmung erscheinen.

Die Berechnung und der Vergleich des für die Einheit der Steigarbeit aufgewendeten Umsatzes erfolgte nun bei den früheren Autoren so, daß dabei ein etwaiger Einfluß der Steilheit der Steigung auf diese Umsatzgröße von vornherein vernachlässigt wurde. Schon in der ersten ausführlichen Darstellung dieser Arbeits- und Berechnungsmethoden haben Zuntz und Lehmann[1]) zur Berechnung des Steigaufwandes pro mkg Hubarbeit beim Pferde eine Gleichung verwendet, die in der späteren Literatur häufig wiederkehrt, und die jene Vernachlässigung in sich schließt. Aus zwei, bei verschiedenen Steigungen ($\sin \alpha_1$, $\sin \alpha_2$) bestimmten Umsatzwerten (U_{a1}, U_{a2}) wird der Horizontalumsatz (x) und der Steigungsumsatz (gleich Mehrumsatz infolge der Steigung) pro mkg (y) berechnet, und zwar nach dem Ansatz:

$$1)\quad x + y \sin \alpha_1 = U_{a1}\,,$$

$$2)\quad x + y \sin \alpha_2 = U_{a2}\,.$$

Die von den einzelnen Autoren verwendeten Gleichungen unterscheiden sich von den hier gegebenen nur dadurch, daß die Umsatzwerte einerseits zum Teil als Kubikzentimeter O.

[1]) Landwirtschaftl. Jahrb. 1889.

andererseits auf die Minute oder nur auf den Meter Weg, nicht auch das Kilogramm bezogen, eingesetzt sind, wodurch entsprechende Faktoren in allen Gliedern der Gleichung auftreten, die aber ohne wesentliche Bedeutung sind.

Bei Aufstellung dieser Gleichungen wird also immer vorausgesetzt, daß der infolge der Steigung pro Meter und Kilogramm auftretende Mehrumsatz ($U_m = U_a - x$) der Steigung ($\sin \alpha$) einfach proportional sei, m. a. W. daß der Mehrumsatz pro mkg (y) von der Steilheit der Steigung nicht abhängt, also bei verschiedenen Steigungen identifiziert werden könne. Diese letztere Größe, die von Durig als „Steigkonstante" bezeichnet wird, haben die Autoren hauptsächlich aufgesucht und verglichen; mehrfach haben sie auch vorgezogen, daraus den sog. „Wirkungsgrad" der Steigarbeit zu berechnen, womit die Verhältniszahl der Hubarbeit ($\sin \alpha$) zum Arbeitsäquivalent des Mehrumsatzes ($0{,}428\ U_m$), also nichts anderes als eine reziproke Proportionszahl der „Steigkonstante" bezeichnet wurde. Nach der von Reach vorgeschlagenen Bezeichnungsweise entspricht dieser Begriff dem reinen Wirkungsgrad der Steigarbeit.

Graphisch betrachtet bedeutet dieses ganze Rechenverfahren folgendes: Durch zwei im U_a - $\sin \alpha$ - Koordinatenfelde (Fig. 5) festgelegte Punkte wird eine gerade Linie gelegt; der durch sie entstehende Abschnitt an der Ordinatenachse ist die extrapolierte „Wegkonstante", der Tangens des Neigungswinkels zur Abszissenachse ist die Steigkonstante und der Cotangens desselben Winkels, dividiert durch 0,428, der „Wirkungsgrad". Daß diese Größen konstant sind, ist eine selbstverständliche Folge davon, daß eine gerade Linie durch die Punkte gelegt wurde.

Zuntz und Lehmann haben auf die dieser Rechnung zugrunde liegende Vernachlässigung nachdrücklich hingewiesen und dieselbe auch an ihren Versuchen am Pferde als teilweise unberechtigt aufgezeigt: sobald steilere Wegsteigungen zu einem wesentlich geänderten Bewegungstypus führen, wird der Aufwand pro 1 mkg zu einem höheren als der Annahme einfacher Proportionalität entspricht, und die Anwendung der obigen Gleichungen kann dann in sinnwidriger Weise zur Berechnung negativer Horizontalwerte führen. In den späteren Arbeiten mit Versuchen an Menschen wird jedoch die Frage der Be-

rechtigung der Gleichungen bei ihrer Benutzung kaum mehr berührt. Allerdings waren bei den Steigmarschversuchen Katzensteins und bei denen, die Zuntz und Schumburg in der „Physiologie des Marsches" beibringen, die Steigungen überhaupt gering und bei je einem von zwei verglichenen Versuchen fast vernachlässigbar klein, ja, in den späteren Arbeiten gingen die Autoren überhaupt dazu über, den Horizontalwert, die „Wegkonstante", gesondert zu bestimmen und bei allen Steigmarschergebnissen gesondert und in gleicher Weise in Abzug zu bringen. Durch diese Verfahrungsweise war man selbstverständlich gegen die Errechnung negativer Horizontalwerte geschützt. Graphisch betrachtet bedeutet dies in Fig. 5 die Festlegung eines Punktes an der Ordinatenachse, dessen geradlinige Verbindung mit jedem einzelnen Beobachtungswert die gesuchte — vorausgesetzt einfache — Proportionalbeziehung ausdrückt.

Allerdings sind nun auch in den älteren Untersuchungen am Menschen besonders deutliche Abweichungen von der einfachen Proportionalität nicht hervorgetreten. Sieht man in der Fig. 5 von den Versuchen an Brezina ab, so scheinen die übrigen Punkte sich wirklich in erster Annäherung am ehesten in eine Gerade zu ordnen. Dieser Eindruck wird jedoch besonders durch die extrem bei 62 % Steigung gelegenen Versuchspunkte von Zuntz und Schumburg hervorgerufen, die als Treppenversuche mit den übrigen nicht voll vergleichbar sein dürften, weil wohl beim Treppensteigen die besonders günstige Wegbeschaffenheit zu großen Ersparnissen im Vergleich zum Gang auf steigendem Terrain Anlaß gibt.

Im übrigen kommt beim Vergleich aller älteren Daten der Eindruck der einfachen Proportionalität zwischen Mehraufwand infolge der Arbeit und Steigung bzw. Steigarbeit dadurch zustande, daß bei den geringen Steigungen die Umsatzwerte der Versuchspersonen Katzensteins sowie besonders der Personen P. und B. bei Zuntz und Schumburg etwas höher, dagegen ziemlich viele von den bei höheren Steigungen angestellten Versuchen, besonders die von Frenzel und Reach — aber auch andere, minder gut gestützte —, etwas niedriger als die Kurve Brezinas zu liegen kommen. Es ist klar, daß eine zuverlässige Aussage über den Einfluß der Steigung auf die

„Steigkonstante“ bzw. auf den „Wirkungsgrad“ auf den Vergleich zweier zeitlich so weit auseinanderliegender Versuchsgruppen wie die an B. und P. einerseits, an Frenzel und Reach andererseits nicht gestützt werden könnte, wenn auch diese beiden Gruppen, für sich betrachtet, als besonders wertvoll gelten können.

A. und J. Loewy und L. Zuntz waren die ersten Autoren, die eine stärkere Variation der Steigung in ihren Versuchsplan aufnahmen und die Ergebnisse diesbezüglich erörterten. Sie behaupten eine leichte Zunahme der Steigkonstante mit der Steigung, welches Ergebnis sich auch ohne weiteres aus der Betrachtung ihrer Versuchspunkte in unserem Bilde entnehmen läßt; es wäre ohne Zwang möglich, durch diese drei Punktgruppen eine der Kurve Brezinas geometrisch ähnliche, allerdings etwas tiefer verlaufende Kurve zu legen.

Die von Zuntz, A. Loewy, Müller und Caspari beigebrachten Versuche an 6 Personen, hauptsächlich bei zwei verschiedenen Steigungen, scheinen am ehesten von allen vorliegenden wirklich für eine einfache Proportionalität zu sprechen. Aber abgesehen davon, daß es nicht angeht, aus je zwei Versuchspunkten und einem gerade hier — wie Durigs Darlegungen zeigen — hypothetischen Ausgangspunkt (Wegkonstante) eine Kurve zu legen, muß hier im Auge behalten werden, daß die Versuche bei der einen Steigung auf der Tretbahn, bei der anderen auf freier Bahn gewonnen, also nicht voll vergleichbar sind. Diese Ergebnisse, die übrigens von der Kurve Brezinas, absolut betrachtet, gar nicht sehr weit abweichen, sind also auch nicht zur Ableitung von Schlüssen geeignet, die unserer Beschreibung der Tatsachen widersprechen würden. Die Autoren haben sie auch zu Schlüssen über den Einfluß der Steigung auf die Steigkonstante selbst gar nicht herangezogen.

Beachtenswert erscheint es aber endlich, daß alle unter Durigs Leitung in den letzten Jahren unter vergleichbaren Bedingungen angestellten Versuche Ergebnisse gehabt haben, die nicht bloß für verschiedene Personen untereinander, sondern auch mit den neueren Versuchen von Brezina und Kolmer weitgehend übereinstimmen. Es darf demnach vermutet werden, daß die Gleichartigkeit der Methodik in allen

Einzelheiten für das nahe Zusammenfallen der Ergebnisse an verschiedenen Personen das wichtigste ist, wogegen selbst der Einfluß der Bahn — ob freie oder Tretbahn — zurücktritt.

Obzwar Durigs Untersuchungen nicht darauf ausgingen, den Einfluß der Steigung auf die „Steigkonstante" zu ermitteln, finden sich doch in seiner Abhandlung[1]) wieder Bedenken gegen die übliche Art der Berechnung der „Steigkonstante" angebracht; es wird auch hervorgehoben, daß eine Änderung des Bewegungstypus, bezüglich welcher Durig auf Jéndrassik verweist, unbedingt die Zerlegbarkeit des Umsatzes in einen Geh- und einen der Steigung proportionalen Steigungsumsatz aufheben müßte.

Im ganzen erscheint es also nunmehr als erwiesen, daß die Daten der älteren Literatur mit den Ergebnissen unserer obigen Feststellungen für die Versuchsperson Brezina zum Teil nicht in ernstlichem Widerspruch, zum Teil in guter Übereinstimmung stehen. Erst durch die starke systematische Variation der Steigung in zahlreichen Versuchen an einer Person konnte das Gesetz der Abhängigkeit der „Steigkonstante" von der Steigung klar zutage treten. Dieses besagt aber nun, daß eine stetige solche Abhängigkeit vorliegt, daß also die „Steigkonstante" nirgends — in keinem Steigungsbereich und am wenigsten bei niedrigen Steigungen — konstant ist, sondern mit zunehmender Steigung beständig wächst.

Naturgemäß gilt die gleiche Inkonstanz und das entgegengesetzte Verhalten für den reziproken Proportionalwert der „Steigkonstante", den „Wirkungsgrad". Da die Hubleistung pro 1 m Weg und 1 kg Gesamtgewicht, wie oben dargelegt, $\sin \alpha$ mkg beträgt, so ergibt sich unter Heranziehung unserer Gleichung:

$$„W" = \frac{\sin \alpha}{0{,}428 \cdot U_m} = \frac{\sin \alpha}{0{,}428 \cdot 13 \cdot \sin^{4/3} \alpha} = \frac{18}{\sqrt[3]{\sin \alpha}}.$$

Dieser „Wirkungsgrad" ist also eine eindeutige Funktion der Steigung, ihrer dritten Wurzel verkehrt proportional; er muß bei gleicher Steigung, ceteris paribus, immer den gleichen Wert und bei verschiedenen Steigungen sehr verschiedene Werte

[1]) l. c., S. 295ff.

annehmen. Die graphische Darstellung dieser Abhängigkeit in Fig. 6 zeigt am deutlichsten, wie dieser scheinbare Wirkungsgrad mit den geringer werdenden Steigungen wächst. So erreicht er bei ca. 5,8 pro Mille Steigung den Wert 100, den er als Prozentzahl niemals überschreiten sollte, und bei noch geringeren Steigungen jeden beliebigen höheren Wert. Bei der Steigung von 30 % beträgt er 27 %, bei 20 % Steigung 31 % und bei 10 % Steigung 39 %. In dieser Variabilität mit der Steigung liegt natürlich nichts anderes als in der Tatsache der Krümmung unserer Kurve konvex zur Steigungsachse, was eben durch die Hubkomponente in der Gehbewegung erklärlich ist.

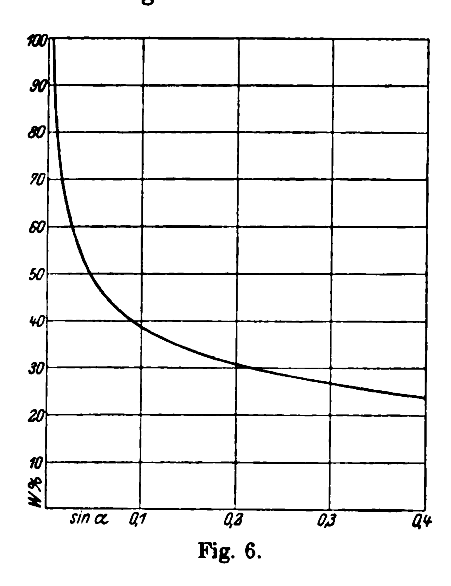


Fig. 6.

Es ist aber verständlich, daß ein solcher, mit der Steigung stark variabler Wert kein sehr geeigneter Maßstab für die Ökonomie des Steigens sein kann. Höchstens wenn es sich um vergleichende Versuche auf der gleichen Bahn unter verschiedenen Umständen an einer Person oder an verschiedenen Personen unter gleichen Umständen handelt, kann dieser „Wirkungsgrad" ein verwendbares Maß liefern. „Wirkungsgrade" jedoch, die bei verschiedener Bahnneigung gewonnen sind, erscheinen — wenigstens ohne Umrechnung, die aber die Kenntnis der individuellen Konstanten voraussetzen würde — schlechthin unvergleichbar.

Solche Einwendungen können nicht erhoben werden gegen die Betrachtung des Verhältnisses der Hubarbeit zum Arbeitsäquivalent des gesamten Steigmarschumsatzes ($U_a = U_h + 13 \sin^{4/3} \alpha$), welches Verhältnis mit Reach als der rohe Wirkungsgrad der Steigarbeit bezeichnet werden kann. Dieser rohe Wirkungsgrad ist offenbar dann das richtige Maß der Ökonomie, wenn es sich nur darum handelt, Höhe zu gewinnen.

Diese Größe entspricht graphisch betrachtet in Fig. 7, die die ausgezogene Kurve der Fig. 5 widergibt, dem 2,34 ($= 1/_{0,428}$) fachen Cotangens des Neigungswinkels β der Verbindungsline zwischen dem Nullpunkt des Systems und jedem Kurvenpunkte. Der rohe Wirkungsgrad

$$W = \frac{\sin\alpha}{0{,}428 \cdot U_a}$$

erscheint für geringe Steigungen naturgemäß als sehr klein, weil hier die Ausgabe für die horizontale Ortsveränderung relativ schwer ins Gewicht fällt. Er wird mit den höheren Steigungen rasch größer und erreicht offenbar ein Maximum bei jener Steigung, bei der der Verbindungsstrahl die Kurve tangiert. Für noch höhere Steigungen muß, wie die graphische Betrachtung lehrt, der rohe Wirkungsgrad wieder sinken. Es gibt also eine mittlere Wegneigung, bei der mit der größten möglichen Ökonomie Höhe gewonnen wird.

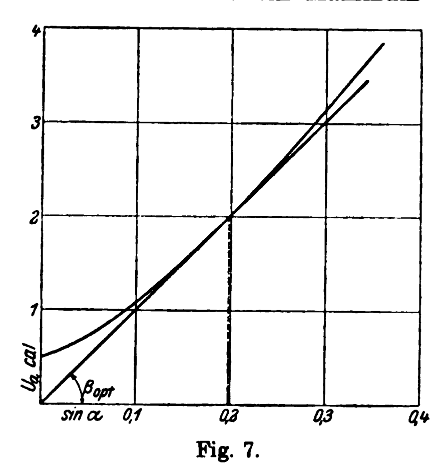


Fig. 7.

Rechnerisch läßt sich diese optimale Steigung und damit der zugehörige rohe Wirkungsgrad aus unserer Gleichung leicht finden. Am einfachsten wird zu diesem Zwecke zunächst der Arbeitsumsatz pro 1 mkg Steigarbeit betrachtet, d. h. der rohe calorische Preis der Arbeit, welche Größe sich zum rohen Wirkungsgrad verhält wie die Steigkonstante zum reinen, bzw. scheinbaren Wirkungsgrad. Jener Wert, der nach dem Obigen auch als $\operatorname{tg}\beta$ aufgefaßt werden kann, ist durch Division der Gleichung für U_a durch $\sin\alpha$ zu gewinnen:

$$\operatorname{tg}\beta = \frac{U_a}{\sin\alpha} = \frac{U_h}{\sin\alpha} + 13\sqrt[3]{\sin\alpha},$$

und das Minimum desselben wird dort anzutreffen sein, wo der Differentialquotient nach $\sin\alpha$ gleich Null wird:

$$\frac{d \operatorname{tg}\beta}{d \sin\alpha} = U_h \sin^{-2}\alpha + 4{,}33 \sin^{-2/3}\alpha = 0,$$

woraus sich für $U_h = 0{,}5$, also der Fig. 7 entsprechend, die optimale Steigung mit 19,8 % oder 11,5°, der minimale Umsatz pro 1 mkg Hubarbeit mit 10,1 cal und der maximale rohe Wirkungsgrad mit 23,1 % ergibt.

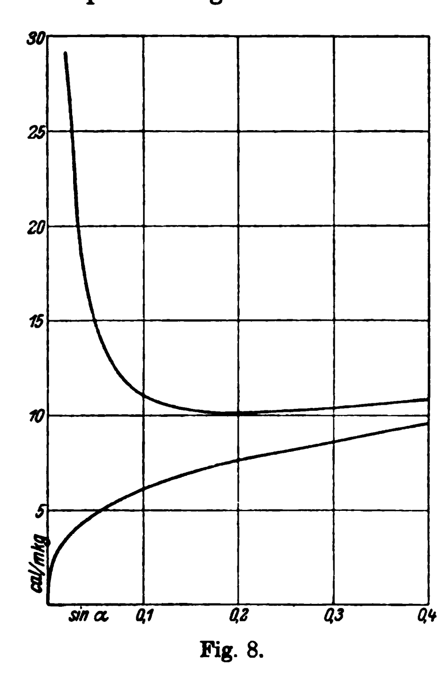


Fig. 8.

In Tabelle V sind die Werte des Umsatzes pro 1 mkg Hubarbeit für die in unseren Versuchen geprüften Belastungen sowie auch für die Optimallast von 19 kg und für verschiedene im untersuchten Bereich gelegene Steigungen numerisch wiedergegeben; auch ist dort für jede Belastung die genauere Lage der Optimalsteigung zu entnehmen. Die Fig. 8 gibt in der oberen Kurvenlinie diese Abhängigkeit für $U_h = 0{,}5$, also für die Optimallast, wieder.

Tabelle V.

Der Gesamtmarschumsatz pro mkg Hubarbeit bei verschiedenen Lasten und Steigungen.

	sin α	3 kg	14 kg	Optimum 19 kg	24 kg	36 kg	46 kg	56 kg
	0,025	24,80	23,90	23,80	23,90	24,96	26,68	29,28
	0,050	15,30	14,84	14,79	14,84	15,32	16,23	17,53
	0,075	12,49	12,19	12,14	12,19	12,54	13,11	13,98
	0,10	11,29	11,06	11,03	11,06	11,32	11,75	12,40
	0,12	10,80	10,60	10,58	10,60	10,82	11,18	11,72
	0,14	10,51	10,34	10,33	10,34	10,53	10,84	11,30
	0,16	10,35	10,20	10,19	10,20	10,37	10,64	11,04
	0,18	10,26	10,14	10,12	10,14	10,28	10,52	10,88
Optima	0,1982			**10,10**				
Optima	0,1987		10,13		10,13			
Optima	0,2056	10,23				10,26		
Optima	0,2195						10,45	
Optima	0,2356							10,73
	0,30	10,47	10,39	10,38	10,39	10,48	10,62	10,84
	0,40	10,87	10,84	10,82	10,84	10,84	11,01	11,17

Bis zu recht hohen Lasten hinauf unterscheiden sich, wie in der Tabelle ersichtlich, die Minimalumsätze pro mkg und die Werte der Steigungsoptima nur wenig. Die rasche Zunahme der Ökonomie der Hubarbeit im Anfangsteil der Kurve erklärt sich, wie schon dargelegt, ohne weiteres aus der relativen Verringerung der — für den Zweck des Steigens nutzlosen, aber auch Energie verbrauchenden — Ortsveränderung. — Etwas schwieriger ist die Tatsache der Existenz eines Umkehrpunktes, einer Optimalsteigung zu verstehen. Das soeben genannte Moment der Wegersparnis muß offenbar bis zu den höchsten Steigungen als wirksam gedacht werden. Allerdings darf angenommen werden, daß die Ausnutzung der Hubkomponente der Geharbeit für das Steigen schon bei irgendeiner mittleren Steigungsgröße praktisch vollkommen wird. Wo diese volle Ausnützung besteht, wird die Ökonomie des Steigens nur noch durch jenen Teil der Wegkonstante gedrückt, der nach Abzug des auf die Hubkomponente entfallenden Betrages erübrigt. Die Größe ist offenbar sehr klein, besonders im Vergleich mit den Umsatzwerten bei den höheren Steigungen. Es ist danach zu erwarten, daß die Ökonomie bei den höheren Steigungen, von der Erreichung der vollen Ausnutzung der Hubkomponente an, sich infolge der Wegersparnis nur mehr ganz wenig bessern kann. Da sie sich aber bei den steileren Steigungen tatsächlich sogar allmählich wieder verschlechtert, so muß gefolgert werden, daß hier ein herabsetzender Einfluß der Steilheit auf die Ökonomie der Hubarbeit selbst oder auf den wahren Wirkungsgrad vorliegt.

In Fig. 8 gibt die untere Kurvenlinie die Steigkonstante (also den scheinbaren calorischen Preis der Hubarbeit) an. Der wahre Preis der Hubarbeit muß überall höher sein als dieser scheinbare, und überall niedriger als der durch die obere Kurve gegebene rohe Preis. Wie ersichtlich, würde kein zwingendes Hindernis vorliegen, den wahren Preis der Hubarbeit im untersuchten Bereich für alle Steigungen gleich anzunehmen: Es läßt sich zwischen beiden Kurven dort noch ganz gut eine genau horizontale Linie denken, die diesem wahren calorischen Preis entspräche. Derselbe müßte zwischen 9 und 10 cal pro mkg ausmachen, was einem von der Steigung unabhängigen wahren Wirkungsgrade zwischen 26,0 und 23,4 % entspricht. Es er-

scheint jedoch nicht recht glaubhaft, daß diese Annahme der Unabhängigkeit des wahren Wirkungsgrades von der Steigung zutreffen sollte. Mindestens für die höheren Steigungen wird eine zwischen beiden Kurven, zu beiden asymptotisch verlaufende, also steigernde Linie als graphischer Ausdruck des wahren calorischen Preises der Hubarbeit zu denken sein, weil andernfalls, wie oben dargelegt, eine Erklärung des Wiederansteigens des rohen Preises fehlen würde. — Ein weiteres Argument gegen die Annahme eines für alle Steigungen konstanten wahren Wirkungsgrades der Hubarbeit ist ferner, daß ein solcher für höhere als die hier erörterten Steigungen (bis 35%) gewiß nicht zutreffen dürfte. Die Mehrumsätze müßten in diesem Falle bei den höheren Steigungen weniger stark zunehmen als unserer Rechnung entspricht, während ja in Wirklichkeit die um 40% Steigung gewonnenen Versuchsdaten gerade deshalb von der Betrachtung ausgeschlossen werden mußten, weil sie ganz unerwartet hoch liegen (Fig. 3). Jedenfalls ist aber die Annahme einer kontinuierlich erfolgenden Änderung des Wirkungsgrades mit der Steigung einfacher als die einer plötzlichen, von einer gewissen Steigung an beginnenden Änderung.

Bei den geringen Steigungen allerdings könnte ganz wohl an eine verminderte, vielleicht schließlich so gut wie gänzlich fehlende Veränderung des wahren Wirkungsgrades mit der Steigung gedacht werden. Es würde diese Annahme in der Fig. 8 einer Kurve entsprechen, die bei der Steigung Null etwa mit der Ordinate 9 cal/mkg beginnt und sich bis zur Steigung von 35% in leichtem Schwunge bis etwa 10 cal/mkg erhebt, so daß der wahre Wirkungsgrad der Hubarbeit im untersuchten Bereich am wahrscheinlichsten als allmählich von rund 26% auf rund 23,4% sinkend gedacht werden darf. In erster Annäherung würde naturgemäß die Annahme eines geradlinigen Verlaufes zwischen den beiden Punkten, ja wohl auch die Annahme eines mittleren, von der Steigung unabhängigen Wirkungsgrades — vielleicht von 25% — genügen.

Für die praktische Vorausberechnung des calorischen Bedarfes beim Steigmarsch erscheint es aber nach dem Dargelegten kaum mehr als zulässig, die Ortsveränderung und die Höhe-

gewinnung als zwei voneinander unabhängige Summanden zu behandeln. Die Annahme eines konstanten oder nahe konstanten Wirkungsgrades von etwa 25 % würde viel zu große Bedarfszahlen ergeben, sobald ein wesentlicher Teil der Höhe auch bei geringen Steigungen gewonnen wird, was wohl fast immer der Fall ist. Es erscheint dann eben ein und derselbe Bedarf zum Teil in beiden Summanden. Die Bedarfszahlen fallen vielleicht eher zutreffend aus, wenn man einen höheren Wirkungsgrad, z. B. 30 %, als gegeben annimmt, welches Rezept jedoch nur unter der ausdrücklichen Verwahrung für die Praxis akzeptiert werden könnte, daß die zugrunde liegende Vorstellung unhaltbar geworden ist. Als ein unnötiger Umweg erscheint es jedenfalls bei einer solchen Berechnungsweise, wenn der Summand für die Ortsveränderung durch Umrechnung des dafür bekannten Calorienbedarfs in mechanische Arbeit gewonnen wird, um zur Hubarbeit addiert zu werden. Dabei wird mit dem Wärmeäquivalent und mit einem hypothetischen Wirkungsgrade von 30 % multipliziert, durch welche beide Größen später die Arbeitssumme wieder dividiert werden muß. Zumal da der Wert 30 % auch für die Hubarbeit nur eine grobe Näherung für den durchschnittlichen scheinbaren Wirkungsgrad vorstellt, erscheint es richtiger, die Zahl so wenig als möglich zu verwenden. Es wäre also bei praktischen Berechnungen des Bedarfes (B) gröbster Art so vorzugehen, daß zunächst der Wegbedarf als: Weg (s) mal Gewicht (p) mal Wegkonstante und sodann der Hubmehrbedarf als: Höhe (h) durch 0,3 mal Wärmeäquivalent, beides in Calorien berechnet, und endlich addiert wird. Die Anweisung hierzu lautet in kurzer Form:

$$B = s \cdot p \cdot U_h + \frac{h \cdot p}{0{,}3 \cdot 0{,}428},$$

wobei für U_h wohl in allererster Näherung 0,55 zu setzen ist. Diese Berechnungsweise entspricht im Resultat völlig dem von Durig bei der Monte Rosa-Expedition des Jahres 1906 praktisch erprobten Verfahren.

Für Aufstellungen der Bedarfsgröße beim Steigmarsch, die Anspruch auf größere Genauigkeit und bessere theoretische Begründung machen, wird jedoch in Zukunft nichts anderes möglich sein, als die Bedarfsgröße nur für solche Teilstrecken

zu berechnen, für die eine annähernd konstante Wegneigung angenommen werden darf, und überdies, den Einfluß der Last in Rechnung zu ziehen. Für unsere Versuchsperson wäre z. B. bei 70 kg Körpergewicht, 30 kg Last, 10 km Weg und 1000 m Höhe bei gleichmäßiger Steigung zunächst die Wegkonstante als:

$$U_h = 0{,}5 + \frac{(L - 19)^2}{10000} = 0{,}5121 \text{ cal}$$

und darum der Bedarf für die Ortsveränderung mit $10000 \cdot 100 \cdot 0{,}5121 \text{ cal} = 512{,}1 \text{ Cal}$, und ferner der Mehrbedarf für die Steigung als:

$$U_m = 13 \sin^{4/3} \alpha = 0{,}603 \text{ cal}$$

mit $100 \cdot 1000 \cdot 0{,}603 \text{ cal} = 60{,}3 \text{ Cal}$, also der Gesamtbedarf für die Steigmarscharbeit mit 572,4 Cal zu berechnen. Der Mehrbedarf für die Steigung könnte in diesem Beispiel natürlich ebensowohl daraus berechnet werden, daß der scheinbare Wirkungsgrad hier den Wert annimmt:

$$„W“ = \frac{18}{\sqrt[3]{\sin \alpha}} = 38{,}8\,\%,$$

so daß der Mehrbedarf für die Hubarbeit:

$$\frac{100 \cdot 1000}{0{,}388 \cdot 0{,}428} = 0{,}602 \text{ cal}$$

wird.

Bei der Wichtigkeit solcher Berechnungen erscheint es erwünscht, daß die obigen Ergebnisse für eine Mehrzahl von Versuchspersonen nachgeprüft werden, um — soweit möglich — zu Konstanzzahlen zu gelangen, die auf Gemeingültigkeit Anspruch erheben dürfen. Immerhin darf aber im Hinblick auf die Daten der älteren Literatur sowohl das allgemeine Verhalten als auch Höhe der Konstanzzahlen unserer Versuchsperson schon einigermaßen als typisch gelten.

Auch für die Praxis des Baues von Wegen, die für den Fußmarsch bestimmt sind, kommt unserer Feststellung einer Optimalsteigung offenbar Bedeutung zu. Ein solcher Weg, der nur Höhe gewinnen soll, müßte diese Steigung, die natürlich wieder für viele Personen zu ermitteln wäre, soweit als tunlich einhalten.

Zusammenfassung.

Es ist in vorliegendem gelungen, die im zweiten Teile dieser Arbeit niedergelegten Ergebnisse der Steigmarschversuche in Anknüpfung an die für den Horizontalmarsch im ersten Teile abgeleiteten Gesetzmäßigkeiten in einfacher und zulässiger Weise zu beschreiben. Die Höhe des Arbeitsumsatzes pro Meter Weg und Kilogramm Gesamtgewicht ergibt sich zwischen $\sin\alpha = 0$ und $\sin\alpha = 0{,}35$ in ausreichender Annäherung als:

$$U_a = U_h + 13 \sin^{4/3} \alpha .$$

Die wichtigsten Folgerungen dieser Feststellung sind:

Die Marschgeschwindigkeit war innerhalb der in den vorliegenden Versuchen innegehaltenen Grenzen des Marschtempos ohne Einfluß auf den Umsatz pro Meter und Kilogramm.

Von der Belastung scheint der Umsatz pro Meter und Kilogramm beim Steigmarsch nicht in anderer Weise beeinflußt, als durch die im ersten Teile der Arbeit dargestellte Abhängigkeit des Wegumsatzes von der Last bedingt wird. In dieser Hinsicht zeigt jedoch das Versuchsmaterial Andeutungen von Abweichungen vom obigen Satze, die zwar nicht ausreichen, um eine kompliziertere Darstellung zu rechtfertigen, aber doch erkennen lassen, daß der Proportionalitätsfaktor (13) des Mehrumsatzes infolge der Steigung ($U_a - U_h$) bei geringen Lasten offenbar etwas niedriger, bei großen Lasten etwas höher anzusetzen wäre. Der Satz also, daß sich der Lasteinfluß mit der Steigung nicht ändert, ist dahin einzuschränken, daß keine sehr wesentliche Änderung erfolgt; immerhin kommt aber offenbar das Optimum der Last allmählich immer niedriger zu liegen und die Umsatzvermehrung durch hohe Lasten wird allmählich um etwas größer, je steiler der Weg ansteigt.

Die in der Gehbewegung enthaltene Hubkomponente wird mit zunehmender Steigung in wachsendem Maße zur Leistung der Hubarbeit nutzbar herangezogen.

Der scheinbare Wirkungsgrad des infolge der Steigung aufgewendeten Mehrumsatzes ergibt sich als:

$$\text{„}W\text{“} = \frac{18}{\sqrt[3]{\sin\alpha}},$$

also als stetige Funktion der Steigung.

Die Betrachtung des rohen Wirkungsgrades der Steigarbeit lehrt, daß es ein Optimum der Steigung für den Zweck der Höhengewinnung gibt, das bei rund $20^0/_0$ Steigung liegt.

Für die praktische Vorausberechnung des Calorienbedarfs für die Steigmarscharbeit ergibt sich als gröbste Annäherung die Möglichkeit, den durchschnittlichen scheinbaren Wirkungsgrad mit $30^0/_0$ anzusetzen. Genauere Berechnungen erscheinen nur für Strecken von nahe konstanter Neigung nach den obigen Gleichungen möglich, deren Konstanten zwar erst für eine Mehrzahl von Versuchspersonen zu erheben wären, jedoch schon im Hinblick auf die Daten der bisher vorliegenden Literatur als einigermaßen typisch gelten dürfen.

Über das Verhalten des formaldehydschwefligsauren (oxymethansulfonsauren) Natriums im Organismus nebst Bemerkungen über seine therapeutische Verwendbarkeit.

Von

Friedrich Simon (Berlin).

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 19. Mai 1914.)

Während der letzten Jahre und Jahrzehnte hat der Formaldehyd in der Arzneimittelsynthese eine immer zunehmende Verwendung gefunden. Die Veranlassung hierzu gaben die außerordentliche Reaktionsfähigkeit dieses einfachsten Aldehyds und seine damit im Zusammenhang stehenden antiseptischen Eigenschaften. Um diese wertvollen pharmakodynamischen Wirkungen für die praktische Therapie auszunutzen, machte sich das Bestreben geltend, solche Formaldehydverbindungen darzustellen und therapeutisch zu verwenden, bei denen die ursprüngliche Toxizität des Formaldehyds, insbesondere seine starken Ätzwirkungen, unschädlich gemacht worden waren, und die Aldehydkomponente erst innerhalb der Gewebe allmählich wieder abgespalten werden sollte. Daß unter diesen Formaldehydpräparaten dem Hexamethylentetramin und seinen mannigfaltigen Kombinationen eine ganz besondere Rolle zufällt, ist ja bekannt, und es ist bezeichnend für die Wertschätzung, deren sich das Hexamethylentetramin als „internes" Formaldehydpräparat erfreut, daß S. Fränkel[1]) „neue Kombinationen in dieser Gruppe, außer unter Anwendung von Hexamethylentetramin, als aussichtslos" bezeichnet.

---

[1]) Die Arzneimittelsynthese, 2. Aufl., Berlin 1906, S. 586.

Angesichts der offenbaren Bevorzugung des Hexamethylentetramins in der Arzneimittelsynthese dieser Gruppe erscheint es auffallend, daß die experimentell-pharmakologische Forschung ein anderes, ebenso leicht und rein darstellbares Additionsprodukt des Formaldehyds, das Formaldehydnatriumbisulfit bisher nur wenig berücksichtigt hat. Ich bin deshalb Herrn Geheimrat Salkowski für die Anregung, diese Verbindung auf ihr Verhalten im Organismus zu prüfen, sehr dankbar und habe die vorliegenden Untersuchungen um so lieber angestellt, als ihre Ergebnisse auch im Hinblick auf das jetzt vielfach verwendete Ehrlichsche Neosalvarsan ein gewisses Interesse versprachen. Bekanntlich entsteht das Neosalvarsan[1]) durch Kondensation des Salvarsans mit Formaldehydnatriumsulfoxylat $HO.CH_2.O.SONa$, dessen Konstitution ja der des Formaldehydnatriumbisulfits $CH_2(OH)(O.SO_2Na)$ verwandt ist.

Formaldehydnatriumbisulfit oder oxymethansulfonsaures Natrium (fortan mit den Buchstaben O.Na abgekürzt), das sich durch Einwirkung von Formaldehyd auf eine wässerige Lösung von Natriumbisulfit leicht in schönen Krystallen gewinnen läßt, ist nach Kerp[2]) beständig gegen Oxydationsmittel, zerfällt aber leicht in seine Komponenten beim Erwärmen mit verdünnten Säuren oder Alkalien, aber auch schon in wässeriger Lösung bei gewöhnlicher Temperatur. Nach H. Fincke[3]) erfolgt die Abspaltung von HCOH aus CH_2OHSO_3Na bei alkalischer Reaktion leichter und vollständiger als bei saurer. In Bestätigung dieser Angabe habe ich gefunden, daß, wenn man wässerige O.Na-Lösungen verschiedenen Gehalts einerseits bei (durch Na_2CO_3-Zusatz bewirkter) alkalischer und andererseits bei (durch H_3PO_4-Zusatz bewirkter) saurer Reaktion destilliert, im ersten Falle geringere O.Na-Mengen (noch 0,003) mit der Leachschen Probe nachweisbar sind als im zweiten (etwa noch 0,009). Durch Titration gegen Jodlösung konnte Kerp feststellen, daß das O.Na in wässeriger Lösung schwach hydrolytisch gespalten ist, daß einer bestimmten Konzentration ein bestimmtes unveränderliches Gleichgewicht entspricht, und daß die Dissoziation mit steigender Verdünnung zunimmt. Nach Kerp und Baur[4]) erweist sich die formaldehydschweflige Säure nach Leitfähigkeit und Gefrierpunktserniedrigung ihrer wässerigen Lösungen als starke Säure, etwa der Salzsäure vergleichbar. Hinsichtlich

---

[1]) Schreiber, Münch. med. Wochenschr. **1912**, Nr. 17. — Stühmer, Deutsche med. Wochenschr. **1912**, Nr. 21. — Touton, Berl. klin. Wochenschr. **1912**, Nr. 24.

[2]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt **21**, 180, 1904.

[3]) Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **27**, Heft 1 bis 3, 253, 1914.

[4]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt **26**, 231, 1907.

des hier besonders interessierenden Komplexzerfalles des O.Na im Kaninchenharn konnte ich Kerps vorstehende Angaben über den zerfallsteigernden Einfluß höherer Temperatur und saurer Reaktion bestätigen. Wenn nämlich normaler Kaninchenharn mit formaldehydschwefligsaurem Natrium versetzt, mit H_3PO_4 angesäuert und dann — mit oder ohne Zuleitung von strömendem Wasserdampf — destilliert wurde, konnte im Destillat unzweifelhaft Formaldehyd nachgewiesen werden — vorausgesetzt, daß dem Harn ein gewisses Minimum des Präparates zugefügt worden war.

Die leichte Spaltbarkeit des O.Na in zwei Komponenten von so lebhafter chemischer Aktivität läßt eine mehr oder weniger energische Wirksamkeit des Präparates auf Fermente und Mikroorganismen erwarten. Doch scheinen die hierüber vorliegenden experimentellen Befunde eher gegen diese Annahme zu sprechen. Nach Vahlen[1]) üben wässerige Lösungen des O.Na selbst in hohen Konzentrationen keinen Einfluß auf die Alkoholgärung und Eiweißfäulnis aus; ebenso fand Hailer[2]) die Substanz in hoher Konzentration ($^1/_{1,5}$ bis $^1/_3$ molarer Lösung) unwirksam gegen Schimmelpilze und Hefen. Etwas günstiger lauten die Erfahrungen, die sowohl Vahlen als auch Hailer mit dem Präparat an Kulturen von Staphylococcus pyogenes aureus gemacht haben: Nach Vahlen verhindern $2^0/_0$ige Lösungen das Wachstum dieses Coccus auf Gelatine; auch Hailer fand, daß der Staphylococcus pyogenes aureus nicht mehr auf Agar wächst bei einem Gehalt des Nährbodens an Formaldehydnatriumbisulfit, der einer Konzentration gleich $^1/_{36}$ molarer Lösung entspricht, und daß von durchschnittlich 34000 Keimen nach 180 Minuten noch 1470 Staphylokokken bei Anwendung einer $^1/_1$ molaren Lösung keimfähig blieben. Interessant ist auch die Beobachtung von O. Loew[3]), daß in einer $0,5^0/_0$igen Lösung des O.Na eine Bakterienart gedeihen konnte, die — morphologisch als kurze, dicke Stäbchen charakterisiert — nach 1 bis 2 Wochen in der Lösung sich als häutige Flocken von schwach rötlicher Färbung entwickelten. Loew nannte dieses Bakterium, das übrigens noch besser in einer $0,5^0/_0$igen Lösung von ameisensaurem Natrium gedieh, Bacillus methylicus.

Eigene Versuche über die antiseptischen Eigenschaften des O.Na habe ich, da solche außerhalb der Aufgabe meines eigentlichen Themas lagen, nur in ganz geringer Zahl, und zwar in Gestalt von Konservierungsversuchen, an Harn und Fleisch angestellt. Die Ergebnisse lassen sich kurz dahin zusammenfassen, daß das O.Na weder (bei einem Zusatz von $1^0/_0$ zu normalem menschlichen Harn) den Beginn der ammoniakalischen Harngärung noch (bei einem Zusatz von

---

[1]) Über das oxymethylsulfosaure Natrium. Inaug.-Diss., Berlin 1890.

[2]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 36, 297, 1911.

[3]) Centralbl. f. Bakt. 12, 462, 1892.

0,5 % zu einer Aufschwemmung von 1 Teil frischen Fleisches in 10 Teilen Wasser) den Eintritt der Fäulnis hinauszuschieben vermochte. Doch möge hier die Beobachtung erwähnt werden, daß ein Hund, der an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 g O.Na per os erhalten hatte, am 2. Tage einen Harn lieferte, dessen anfänglich stark saure Reaktion erst nach 9 tägiger Aufbewahrung (bei Zimmertemperatur ohne Desinfektionsmittel) schwach alkalisch wurde, am 3. Tage aber einen Harn, der noch am 18. Tage der Konservierung stark sauer reagierte.

Daß also das O.Na konservierende bzw. bactericide Eigenschaften, wenn überhaupt, nur in geringem Maße — wenigstens in vitro — besitzt, konnte ich durch meine wenigen Versuche nur bestätigen. Wie bei vielen anderen Präparaten, erscheint es aber auch hier keineswegs zulässig, die in vitro gewonnenen günstigen oder ungünstigen Erfahrungen auf die Beurteilung der Wirkungsweise in vivo zu übertragen. Denn pharmakodynamische Leistungen und ein etwa möglicher therapeutischer Erfolg sind offenbar weniger von dem unveränderten O.Na als solchem als von seinen Konstituenten, insbesondere von etwa abgespaltenem Formaldehyd zu erwarten. Es war deshalb zunächst die Frage zu beantworten, ob der lebende Organismus zu dieser Zerlegung des O.Na überhaupt befähigt ist. In den hier vorliegenden Versuchen habe ich in erster Linie das Verhalten der Formaldehydkomponente berücksichtigt, da sowohl die schwefelhaltigen organischen Verbindungen im allgemeinen als auch die organisch gebundene schweflige Säure bereits mehrfach den Gegenstand experimentell-pharmakologischer Untersuchungen gebildet haben.

Nachdem bereits vor längerer Zeit Salkowski[1]) festgestellt hatte, daß schwefelhaltige Säuren der aliphatischen Reihe, in denen der Schwefel mit einer Affinität an Sauerstoff und mit der anderen an einen hydroxylhaltigen Kohlenstoffkern gebunden ist, nicht giftig wirken und im Organismus leicht oxydiert werden, fanden Rost und Franz[2]), daß die an Aldehyde gebundenen schwefligen Säuren auf den Tierkörper nicht anders wirken als Na_2SO_3 bzw. SO_2; sie zerfallen im Organismus in $NaHSO_3$ und die entsprechenden Aldehyde. Mit Bezug auf das Ver-

[1]) Virchows Archiv **66**, 315, 1876.

[2]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 21, 312, 1904.

halten der Sulfitkomponente dieser Verbindungen konnte Sonntag[1]) durch Parallelversuche an Hunden, an die Na_2SO_3 bzw. acetaldehydschwefligsaures Natrium verfüttert wurde, feststellen, daß der bei weitem größte Teil der Sulfite im Körper zu Sulfat oxydiert und als solches ausgeschieden wird. Die von Sonntag aufgestellte Schwefelbilanz zeigt, daß der in den verfütterten Präparaten enthaltene Schwefel vollständig im Harn wieder zur Ausfuhr gelangt. Eine Oxydation der in Form von Natriumsulfit oder acetaldehydschwefligsaurem Natrium eingeführten Sulfite zu Sulfaten beobachteten Franz und Sonntag[2]) auch beim Menschen; gewisse Differenzen der beim Menschen und beim Hunde erhobenen Befunde waren jedoch insofern vorhanden, als beim Menschen die Ausscheidung der Ätherschwefelsäuren nicht beeinflußt, beim Hunde aber vermehrt wurde.

Was nun im besonderen das formaldehydschwefligsaure Natrium betrifft, so liegen über das Verhalten seiner Sulfitkomponente im Organismus nur einige Beobachtungen von Franz und Sonntag (l. c.) vor, die beim Menschen — nach Verabreichung von 2,67 g O.Na per os — im Harn SO_2 qualitativ nachweisen konnten; die Ausscheidung von SO_2 begann bei diesem Versuche später als z. B. nach Verabreichung von Natriumsulfit oder acetaldehyd- oder glucoseschwefligsaurem Natrium. Wenn nun auch der experimentelle Beweis hinsichtlich der intravitalen Oxydation seiner Sulfitkomponente gerade für das formaldehydschwefligsaure Natrium noch aussteht, so sind doch die positiven Resultate, die, wie schon erwähnt, Sonntag sowie Franz und Sonntag in ausgedehnten und äußerst sorgfältig durchgeführten Versuchsreihen mit Natriumsulfit bzw. acetaldehydschwefligsaurem Natrium beim Menschen und Hunde erhalten haben, so schlagend und eindeutig, daß ein Analogieschluß auf das entsprechende Verhalten des O.Na wohl gestattet sein dürfte. Es erschien mir deshalb überflüssig, den Nachweis der Sulfitoxydation, der für das acetaldehydschwefligsaure Natrium beim Menschen und Hunde bereits geliefert worden war, für das Formaldehydnatriumbisulfit bei den gleichen Tierarten noch einmal besonders zu führen. Ich begnüge mich vielmehr, hier einige Beobachtungen anzuführen, die sich auf das Vorkommen bzw. die vermehrte Ausscheidung won Thiosulfaten im Harn nach Aufnahme von O.Na beziehen. In manchen Fällen darf nämlich

[1]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt **21**, 285, 1904.

[2]) Ebenda **28**, 225, 1908.

nur von einer vermehrten Ausscheidung des Thiosulfats gesprochen werden, seitdem kürzlich Salkowski[1]) den Thiosulfatgehalt im Harn normaler, mit Weißkohl gefütterter Kaninchen sichergestellt und quantitativ bestimmt hat. Da die vorliegenden Versuche vor der Publikation der Salkowskischen Beobachtungen angestellt wurden, habe ich auf das Auftreten des Thiosulfats nicht regelmäßig geachtet; doch habe ich ebenfalls bei der Destillation angesäuerter normaler Kaninchenharne, die von mit Weißkohl gefütterten Tieren stammten, oft genug einen mehr oder minder deutlichen Schwefelbeschlag im Kühler als Zeichen stattgehabter Thiosulfatzersetzung feststellen können. Viel intensiver aber und — auch bei nicht besonders darauf gerichteter Aufmerksamkeit — sofort bemerkbar war dieser Schwefelbeschlag bei der Destillation von Kaninchenharnen, die nach Verabreichung von O.Na entleert worden waren. So habe ich bei fünf verschiedenen Kaninchen, die 0,5 bzw. 1,0 bzw. 2,0 bzw. 2,4 g O.Na per os bzw. 1,0 g subcutan erhalten hatten, stets beträchtlichen Thiosulfatgehalt der Harne nachgewiesen, und zwar durch regelmäßige Beobachtung des erwähnten Schwefelbeschlages, in einigen Fällen außerdem durch den positiven Ausfall der Ag-Reaktion auf $H_2S_2O_3$ in den nativen Harnen; bisweilen war die Schwefelabscheidung bei der Destillation so reichlich, daß in den Destillaten eine Menge grober gelber Schwefelpartikel suspendiert war. Bemerkenswert ist nun, daß weder von einem Hunde, der an drei aufeinander folgenden Tagen je 10 g O.Na per os erhalten hatte, noch von mir selbst nach Aufnahme von 9 g O.Na (im Laufe von 14 Stunden) ein Harn geliefert wurde, in dem Thiosulfat sicher nachweisbar war. Es scheint sich also das intravitale Oxydationsvermögen — bei Kaninchen einerseits, beim Menschen und Hunde andererseits — der Sulfitkomponente des O.Na gegenüber ganz verschieden zu verhalten. Wie sich aus der fehlenden Thiosulfatausscheidung ergibt und wie wir auf Grund der beim acetaldehydschwefligsauren Natrium erhobenen Befunde als wahrscheinlich annehmen dürfen, sind Mensch und Hund befähigt, den größten Teil der in Form von O.Na einverleibten schwef-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, Heft 6, 1914.

ligen Säure zu Schwefelsäure zu oxydieren. Beim Kaninchen dagegen entgeht ein mehr oder minder beträchtlicher Anteil des als O.Na eingeführten Sulfits dieser Oxydation, wird im Organismus zu Thiosulfat reduziert und als solches mit dem Harn ausgeschieden. Ob nun neben diesem Reduktionsprozeß beim Kaninchen überhaupt eine Sulfitoxydation stattfindet und zu welchem Prozentsatz der verabreichten formaldehydschwefligen Säure, wäre nur durch Anstellung einer besonderen Versuchsreihe zu beantworten, auf deren Durchführung ich verzichtet habe. Ich habe mich vielmehr darauf beschränkt, das formaldehydschwefligsaure Natrium auf das Verhalten seiner Formaldehydkomponente im Tierkörper zu prüfen, und zwar habe ich bei meinen Versuchen die allgemeinen toxischen Wirkungen des Präparates, die Abspaltung von HCOH und dessen Nachweis im Blut und Harn, ferner die Oxydation des abgespaltenen HCOH zu Ameisensäure und deren Ausscheidungsverhältnisse berücksichtigt und werde anschließend die Möglichkeit einer therapeutischen Verwendung des Präparates kurz erörtern.

I. Toxische Wirkungen des O.Na.

Über die Dosis tolerata des Präparates finden sich in der Literatur einige Angaben, die sich auf Versuche am Menschen, am Hunde, Kaninchen, Frosche und an kleinen Fischen gründen. So nahm Franz[1]) (im Selbstversuche) ohne jede schädliche Wirkung 2,67 g O.Na in Oblate, nachdem er zuvor 200 ccm Wasser getrunken hatte; ein Hund von 6600 g verträgt nach Pohl[2]) 5 g O.Na subcutan, und die gleiche Dosis injizierten Rost und Franz (l. c.) ohne nachteilige Folgen einem Hunde von 4100 g intravenös; O. Loeb[3]) verfütterte an drei Kaninchen 22 bzw. 13 bzw. 37,5 g O.Na (in fortlaufenden Tagesdosen von je 1,0 bzw. 1,5 g) ohne erhebliche Störungen des Allgemeinbefindens; bei subcutaner Einverleibung vertrug nach Vahlen[4]) ein Kaninchen 1,5 g O.Na pro Kilogramm; derselbe Autor spritzte auch Frösche subcutan mit 0,3 bzw. 0,5 g O.Na, ohne einen Einfluß auf die Herztätigkeit zu beobachten; bei kleinen Fischen fanden Rost und Franz[5]) das Präparat ohne jede Wirkung.

---

[1]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 28, 225, 1908.

[2]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **31**, 281, 1893.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **69**, 114, 1912.

[4]) Inaug.-Diss. Berlin 1890.

[5]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt **43**, 187, 1912.

Als Dosis letalis für Kaninchen haben Rost und Franz[1]) bei Einführung per os 3,1 bzw. 4,4 g O.Na und Vahlen (l. c.) bei subcutaner Injektion 1,5 bzw. 2,0 g pro Kilogramm Kaninchen festgestellt.

In Übereinstimmung mit den vorstehenden Angaben habe auch ich eine (relativ) große Toleranz dem O.Na gegenüber beim Menschen, Hunde und Kaninchen beobachten können. Wie aus nachstehender Tabelle I ersichtlich ist, wurden nach stomachaler und subcutaner Einverleibung in Dosen bis zu 1,0 g pro Kilogramm niemals irgendwelche länger anhaltenden Störungen des Allgemeinbefindens beobachtet. Nur bei einem Kaninchen von 2335 g, das 2,4 g O.Na per os erhalten hatte, trat unmittelbar nach der Eingießung ein kurzdauernder kollapsartiger Zustand auf, dessen Entstehung aber vielleicht auch auf den Akt der Sondierung und seine Chokwirkung zurückgeführt werden kann, da das gleiche Tier 3 Tage später eine Dosis von 2,0 g anstandslos vertragen hat. Nach intravenöser Einführung dagegen waren bei einigen Kaninchen deutliche Intoxikationserscheinungen ausgeprägt, die sich als Erhöhung der Atemfrequenz, in einem Falle sogar als ausgesprochene Dyspnoe bemerkbar machten. Der einzige Fall von letaler Wirkung, den ich bei meinen Versuchen zu verzeichnen hatte, betraf ein Kaninchen von 1870 g, das 1,0 g O.Na intravenös erhalten hatte; das Tier zeigte unmittelbar nach der Injektion keine auffälligen Symptome, nach 10 Minuten fiel es aber plötzlich tot zur Seite. Ob hier den tödlichen Ausgang die Giftigkeit des Präparates und nicht etwa eine besondere Empfindlichkeit des Tieres verschuldet hat, ist immerhin zu bedenken, da in manchen meiner Versuche mit intravenöser Einverleibung von O.Na Kaninchen von gleichem oder noch geringerem Gewicht die gleichen und sogar größere Dosen anscheinend gut vertragen haben, insofern bei ihnen wenigstens alle akuten Intoxikationssymptome vermißt wurden. Daß diese Symptome vielleicht noch später hätten zur Beobachtung kommen können, ist immerhin möglich, allerdings nach dem Verlaufe meiner anderen Versuche nicht sehr wahrscheinlich.

[1]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 21, 312, 1904.

Tabelle I.

Einführung von Formaldehydnatriumbisulfit und deren Wirkung auf das Allgemeinbefinden.

Versuch	Tier	Gewicht des Tieres	Dosis g	Art der Einführung	Wirkungen
1	Kaninch.	2650 g	0,5	per os	Keine.
2	Dasselbe Tier	2650 g	1,0	" "	Keine.
3	Kaninch.	2500 g	1,0	" "	Keine.
4	"	2200 g	1,0	" "	Keine.
5	"	1620 g	1,6	" "	Am Tage der Einführung etwas verminderte Freßlust, sonst Wohlbefinden.
6	"	3100 g	2,0	" "	Keine.
7	"	2335 g	2,4	" "	Unmittelbar nach der Eingießung kollapsartiger Zufall, der aber nur wenige Minuten anhält; dann rasche Erholung und in der Folgezeit dauerndes Wohlbefinden.
8	Dasselbe Tier	2335 g	2,0	" "	Diese Eingießung, die 3 Tage nach dem vorigen Versuch 7 gemacht wurde, war ohne jede schädliche Wirkung auf das Allgemeinbefinden.
9	Verf.	53 kg	9,0	" "	Die Menge von 9 g wurde in Einzeldosen von 1,5 bzw. 3,0 g im Laufe von 14 Stunden aufgenommen und im übrigen die gewohnte gemischte Kost verzehrt. Abgesehen von leichter Diarrhöe nach der Dosis von 3,0 g traten keine Störungen ein.
10	Hund	21370 g	3 mal 10	" "	Keine. (Es wurden an drei aufeinander folgenden Tagen je 10 g ohne schädliche Wirkung aufgenommen.)
11	Kaninch.	1870 g	0,6	subcutan	Keine.
12	Dasselbe Tier	1870 g	0,5	"	Keine. (Diese Injektion wurde am Tage nach der vorigen gemacht.)
13	Kaninch.	1250 g	1,0	"	Keine.
14	"	1780 g	0,712	intravenös	10 Minuten nach der Injektion vorübergehend etwas beschleunigte Atmung, dann dauerndes Wohlbefinden.
15	"	1820 g	1,0	"	Wenige Minuten nach der Injektion tritt heftige Dyspnoe auf, die etwa 3 Stunden anhält. Nach 24 Stunden ist das Tier wieder vollkommen munter, nur die Freßlust ist in den ersten 3 Tagen etwas vermindert.
16	"	1870 g	1,0	"	Unmittelbar nach der Injektion keine auffälligen Symptome. 10 Minuten später aber fällt das Tier zur Seite und ist tot.
17	"	1250 g	0,75	"	In der ersten halben Stunde nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.
18	"	1750 g	1,225	"	In der ersten halben Stunde nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuch	Tier	Gewicht des Tieres	Dosis g	Art der Einführung	Wirkungen
19	Kaninchen	2250 g	1,35	intravenös	Abgesehen von etwas beschleunigter Atmung in der ersten halben Stunde nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.
20	"	1870 g	1,309	"	Abgesehen von leichter Mattigkeit in den ersten 1½ Stunden nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.
21	"	2470 g	1,358	"	In den ersten 1½ Stunden nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.
22	"	1740 g	1,218	"	In den ersten 3 Stunden nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.
23	"	2770 g	1,385	"	Anfangs etwas beschleunigte Atmung, sonst in den ersten 6 Stunden nach der Injektion keine auffälligen Symptome; dann Tier getötet.

Abgesehen von den hier erwähnten toxischen Erscheinungen, die vornehmlich als Respirationsstörungen imponierten, haben Vahlen[1]) sowie Rost und Jürß[2]) bestimmte Schädigungen der Zirkulationsorgane durch formaldehydschwefligsaures Natrium beschrieben. Nach R. und J. ist die mit einer Abnahme des Tonus und mit Schlagverlangsamung verbundene Wirkung auf das isolierte Kaninchenherz außerordentlich flüchtig und geht bei Ersatz der Giftlösung durch Ringersche Flüssigkeit mehr oder weniger in vollständige Erholung über. Vorher hatte auch Vahlen durch Versuche am Hürtleschen Manometer und Ludwigschen Kymographion festgestellt, daß bei Kaninchen durch subcutane und intravenöse Injektionen von O.Na der Blutdruck herabgesetzt wird. Bemerkenswert sind auch die experimentellen Arterionekrosen, die O. Loeb (l. c.) — ebenso wie durch reinen Formaldehyd und durch Helmitol (anhydromethylencitronensaures Hexamethylentetramin) — durch wochenlange Zuführung von O.Na per os in Tagesdosen von 1,0 bzw. 1,5 g bei Kaninchen erzeugen konnte, und zwar auch insofern bemerkenswert, als die Tiere außer den erwähnten in der Aorta

[1]) l. c.
[2]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 34, 377, 1910.

lokalisierten Gefäßschädigungen keine klinischen Symptome einer akuten oder chronischen Intoxikation zeigten.

Für die toxikologische Bewertung des Formaldehydnatriumbisulfits kommen als einzeln oder kombiniert wirksame Gruppen seiner Konstitution in Betracht: 1. die Formaldehydkomponente, 2. die Sulfitkomponente, 3. die Ameisensäure, zu der der im tierischen Organismus abgespaltene HCOH in den Geweben oxydiert wird. Daß diese Abspaltung und Oxydation intra vitam wirklich vor sich gehen, soll in späteren Abschnitten auf Grund meiner Versuchsergebnisse noch ausführlich besprochen werden. Hier ist zunächst die Frage zu beantworten, ob die Ameisensäure überhaupt und in den bei meinen Versuchen nach Verabreichung von O.Na gebildeten Mengen charakteristische Giftwirkungen auszulösen vermag. Die zweite Frage wird man entschieden verneinen können, wenn man berücksichtigt, daß Hoffmann[1]) ein Kaninchen 9 mal mit Tagesdosen von je 1 g Natrium formicicum subcutan spritzte und Rühle[2]) einem Kaninchen mehrere Tage hintereinander „entsprechend verdünnte" Ameisensäure intravenös einführte, ohne daß die Tiere irgendwelche Intoxikationserscheinungen boten, daß ferner nach Fleig[3]) die toxische Dosis der Ameisensäure für den Hund bei intravenöser Injektion 3 g pro kg und bei Darreichung per os 4 g pro kg betragen soll. Von besonderen Giftwirkungen der Ameisensäure seien hier noch die von Croner und Seligmann[4]) beschriebene (von Rost, Franz und Heise[5]) allerdings bestrittene) Methämoglobinbildung und die von Lebbin[6]) bei einzelnen Kaninchen beobachteten Nierenschädigungen genannt.

Der Anteil der Sulfitkomponente an der Gesamttoxizität des O.Na braucht nicht sehr hoch bewertet zu werden. Denn einmal scheint den Sulfiten an sich eine geringe Toxizität zuzukommen, wie man wenigstens aus den Erfahrungen

---

[1]) Dissertation, Greifswald 1884.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1912, Nr. 45.

[3]) Arch. Internat. de Pharmacodyn. et Thér. 17, 147, 1908. (Zit. nach Abderhaldens Bioch. Handlex. 1, 2, 916.

[4]) Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. 56, 395, 1907.

[5]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt 32, 267, 1909.

[6]) Chem.-Zeitg. 1906, Nr. 82, S. 1009.

Rosts[1]) entnehmen kann, dessen 30 kg schwerer Versuchshund pro Tag bis zu 70 g Na_2SO_3 mit dem Futter aufnehmen konnte, ohne irgendwelche Störungen des Befindens und der Freßlust oder Krankheits- und Vergiftungserscheinungen zu zeigen; dann aber ist gerade das Formaldehydnatriumbisulfit von allen organisch „gebundenen" schwefligsauren Salzen das am wenigsten giftige, viel weniger giftig als die Acetaldehyd-, die Aceton-, die Glucoseverbindung und als Na_2SO_3 und $NaHSO_3$. Denn, wie die vergleichenden Untersuchungen von Rost und Franz (l. c.) ergeben haben, wirken z. B. von Lösungen mit einem Gehalt von 2,96 % SO_2 von der Blutbahn aus bei Kaninchen tödlich:

Formaldehydschwefligsaures	Na	44	ccm	nach	42 Min.
Actaldehyd „	„	11	„	„	25 „
Neutrales „	„	8	„	„	17 „

Bei Einführung einer 10%igen Lösung in den Magen von Kaninchen betrug nach R. und F. (auf SO_2 berechnet) die tödliche Menge beim formaldehydschwefligsauren Natrium: 1,85 g (pro kg), beim Na_2SO_3: 0,65 g (pro kg). Da ferner beim CH_2OHSO_3Na erst nach 64 Minuten, beim Na_2SO_3 aber schon nach 20 Minuten Vergiftungserscheinungen auftreten, wird man wohl mit R. und F. die relativ geringe Toxizität der Sulfitkomponente im O.Na durch die verlangsamte intravitale Zerlegung des Präparates erklären können.

Man wird also die Anteile, die Ameisensäure und schwefelige Säure an der toxischen Gesamtwirkung des O.Na haben, zwar nicht vollkommen vernachlässigen, aber auch nicht zu hoch veranschlagen dürfen und als Hauptschädlichkeit im O.Na seine Formaldehydkomponente annehmen müssen.

Kaninchen[2]) vertragen per os verhältnismäßig große Formaldehydmengen, so gab z. B. Blum[3]) einem großen Kaninchen per os auf einmal 1,5 Formaldehydlösung (= 0,6 HCOH) ohne dauernde Schädigung des Tieres, und P. Rosenberg[4]) verabreichte 2 Kaninchen von 1670 bzw. 1450 g innerlich (allerdings im Laufe von 7½ bzw. 15 Stunden) in Form einer Verbindung mit Milchzucker 0,48 bzw. 0,76 reinen HCOH

---

[1]) Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamt **34**, 305, 1910.

[2]) Experimentelle Daten über die toxische und letale Dosis von HCOH bei Hunden, siehe Mosso und Paoletti, Arch. ital. de Biolog. **24**, 321, 1895.

[3]) Münch. med. Wochenschr. **1893**, Nr. 32.

[4]) Therapie d. Gegenwart **1905**, 160.

ohne akute Intoxikationswirkungen. Ich selbst habe zwei Kaninchen von 2650 bzw. 2100 g 1 bzw. 1,5 ccm der offizinellen 35%igen Formaldehydlösung (mit Wasser auf 50 ccm verdünnt) durch die Schlundsonde eingegossen. Das erste Tier fraß in den nächsten Tagen sehr wenig, blieb aber sonst ganz munter; das zweite fraß nach der Eingießung nicht mehr, ohne im übrigen ein gestörtes Befinden zu zeigen und wurde (da der Versuch es erforderte) nach 24 Stunden getötet.

Stürmischer und dabei prägnanter sind die Wirkungen intravenöser Formaldehydinjektionen. Dieser Art der Einverleibung mit ihren individuell weniger modifizierten Resorptionsbedingungen ist aber dann der Vorzug zu geben, wenn es sich darum handelt, den Anteil der Formaldehydkomponente an der Gesamttoxizität des O.Na zu ermitteln oder vielmehr die relative Unschädlichkeit des an schweflige Säure gebundenen Formaldehyds im Vergleich mit der Giftigkeit des reinen HCOH zu zeigen. Zu diesem Zwecke habe ich zunächst zwei gesunde Kaninchen mit der gleichen Dosis Formaldehyd, nämlich 0,089 HCOH pro kg Tier, intravenös injiziert, und zwar ein Kaninchen von 1440 g mit 0,365 ccm offizineller 35%iger Formaldehydlösung und ein anderes im Gewichte von 1780 g mit der entsprechenden Formaldehydmenge in Form von 0,712 g CH_2OHSO_3Na. Die Injektionen, deren Volumina stets 10 ccm betrugen, wurden in beiden Fällen in die Ohrvene des Randes gemacht. Die Wirkung gestaltete sich so, daß das mit reinem HCOH gespritzte Tier schon nach Injektion von 3,5 ccm laut zu schreien begann und so unruhig wurde, daß die Einspritzung unterbrochen werden mußte. Nach einigen Minuten hatte sich das Kaninchen beruhigt, und der Rest der HCOH-Lösung wurde injiziert. Unmittelbar darauf setzten heftige Konvulsionen ein, unter denen der Tod nach etwa 2 Minuten erfolgte. Das mit der entsprechenden HCOH-Menge in Form von CH_2OHSO_3Na gespritzte Kaninchen aber zeigte — abgesehen von einer etwa 10 Minuten später einsetzenden und nur wenige Minuten anhaltenden Steigerung der Atemfrequenz — keinerlei Intoxikationserscheinungen; es war sehr bald wieder vollkommen munter und blieb auch so während der nächsten Tage. Ich habe ferner einem Kaninchen von 1820 g, das einige Tage zuvor eine intravenöse Injektion von 1 g CH_2OHSO_3Na (= 0,224 HCOH = 0,123 HCOH pro kg) zwar mit heftiger und etwa 3 Stunden lang anhaltender Dyspnoe beantwortet, sonst

aber ohne merkbare Folgen überstanden hatte, 0,25 ccm 35%iger HCOH-Lösung (= 0,0875 HCOH = 0,048 pro kg[1]) in die Blutbahn gespritzt; das Tier war schon während des Eingriffes sehr unruhig und starb dann unter Konvulsionen und Atemnot etwa 7 Minuten nach beendigter Injektion.

Aus den vorstehenden Versuchen ergibt sich also, daß eine bestimmte Formaldehydmenge (0,09 pro kg Kaninchen) außer kurzdauernder Steigerung der Atemfrequenz keine Vergiftungssymptome hervorzurufen vermag, wenn sie gebunden an schweflige Säure, in Form des O.Na intravenös injiziert wird — dagegen akut tödlich wirkt bei Einführung ihrer reinen wässerigen Lösung in die Blutbahn. Es ergibt sich ferner, daß man mit einer bestimmten Formaldehydmenge (0,048 pro kg) ein Kaninchen töten kann, das zuvor die intravenöse Injektion der $2^1/_2$fachen Formaldehyddosis in Form des O.Na überstanden hatte. Allerdings verliert der letzte Schluß einigermaßen an Beweiskraft durch den Einwand, daß bei Versuchen an ein und demselben Tiere vielleicht auch kumulierende Wirkungen[2]) des Formaldehyds den Ausfall mitbestimmen dürften.

II. Abspaltung von HCOH im Organismus und dessen Nachweis im Blut und Harn nach Aufnahme von O.Na.

Wenn auch nach den Erfahrungen Kerps[3]) über den leichten Komplexzerfall wässeriger O.Na-Lösungen eine Aufspaltung der Verbindung in ihre Komponenten innerhalb des tierischen Organismus als durchaus wahrscheinlich anzunehmen war, habe ich doch geglaubt, diesen Nachweis — wenigstens für die Formaldehydkomponente — liefern zu müssen, besonders mit Rücksicht auf die Wichtigkeit, die diese Beweisführung für die Bewertung des O.Na als gegebenenfalls therapeutisch zu verwendenden Formaldehydpräparates gewinnen kann. Der Nachweis der intra vitam stattgehabten Aufspal-

[1]) Nach Uhland (Centralbl. f. Bakt. 57, 1, 155, 1911) vertragen Kaninchen intravenös gut bis zu 0,038 HCOH pro kg.

[2]) Kumulierende Wirkungen des HCOH führt auch Brunnthaler (Ärztl. Sachverst.-Zeitg. 1913, Nr. 7) an.

[3]) l. c.

tung läßt sich durch Auffindung von freiem HCOH in den Organen, im Blut oder Harn erbringen. Welche Schwierigkeiten jedoch diese Ermittlung — in den Organen wenigstens — bereiten kann, zeigen die einander widerstreitenden Befunde von Filippi und Motolese[1]) sowie von Gianelli[2]).

Die Angaben von F. und M., daß nach subcutaner Einverleibung von Formaldehyd dieser sich in allen Organen festsetze und hier noch lange nach dem Tode des Versuchstieres nachzuweisen sei, werden von G. z. T. bestritten und nur insoweit bestätigt, als er allein in den der Einführungsstelle benachbarten Geweben den injizierten HCOH wieder auffinden konnte. Auch über das Vorkommen von HCOH im Blute der mit Formaldehyd oder Formaldehydpräparaten vorbehandelten Tiere scheinen die vorliegenden Ergebnisse der Eindeutigkeit und Übereinstimmung zu entbehren, da z. B. P. Rosenberg[3]) bei 2 Kaninchen nach innerlicher Verabreichung einer Formaldehydmilchzuckerverbindung im Destillate des Blutes freien HCOH mit der Lebbinschen Reaktion nachweisen konnte, während andererseits Gianelli (nach subcutaner und rectaler Einführung von HCOH) sowie Stern[4]) und Vindevogel[5]) (nach Darreichung von Urotropin) im Blutserum Formaldehyd stets vermißten.

Ich habe den Formaldehydnachweis im Blute auf zweifache Weise zu führen gesucht: Entweder durch Destillation des frisch entnommenen und mit H_3PO_4 angesäuerten Blutes oder durch Isolierung des HCOH aus dem Blute vermittels Ausschüttelung mit Äther. Die zweite Methode ist für die vorliegende Aufgabe, den HCOH-Nachweis nach Verabreichung von CH_2OHSO_3Na, der ersten entschieden vorzuziehen, da ja das O.Na in der Hitze sich zersetzt und deshalb der mit der Destillationsmethode erbrachte HCOH-Nachweis stets die Frage unbeantwortet läßt, ob der im Destillate aufgefundene HCOH bereits intra vitam oder erst während des Destillationsprozesses aus CH_2OHSO_3Na abgespalten wurde. So habe ich z. B. im Destillate eines Blutes, das einem $^1/_2$ Stunde zuvor mit 0,75 CH_2OHSO_3Na intravenös gespritzten Kaninchen entstammte, durch den positiven Ausfall der Reaktionen von Rimini, Leach und Lebbin Formaldehyd sicher nachge-

[1]) Annali di farmacoterap. **1900**, 195. Refer.: Maly **30**, 85.
[2]) Ebenda **1900**, 469. Refer.: Maly **31**, 108.
[3]) Therapie d. Gegenwart **1905**, 160.
[4]) Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte **1905**, II, 2, S. 33.
[5]) Annales d. l. soc. roy. d. sc. de Bruxelles **11**, 2, 20; Maly **32**, 124.

wiesen, ohne jedoch aus diesem Versuche mehr folgern zu können, als daß beim Tode des Tieres noch ungespaltenes O.Na im Blute zirkuliert haben kann. Der negative Ausfall der HCOH-Reaktionen würde allerdings den unzweifelhaften Beweis dafür geliefert haben, daß das Blut weder abgespaltenen HCOH noch unzersetztes CH_2OHSO_3Na enthalten haben könnte. Mit diesem Rückschluß habe ich in dem Destillate des frisch entnommenen Blutes eines Kaninchens, das mit 0,25 ccm der 35%igen Formaldehydlösung intravenös gespritzt worden war und etwa 7 Minuten später unter Krämpfen gestorben war, keinen HCOH nachweisen können — ebensowenig wie in den Blutdestillaten zweier Kaninchen von 2100 bzw. 2200 g, die 24 Stunden zuvor 1,5 ccm der HCOH-Lösung bzw. 1 g O.Na per os erhalten hatten und dann getötet worden waren. Der hier mit einiger Berechtigung zu erhebende Einwand, ob die Destillationsmethode überhaupt zur Isolierung des HCOH aus dem Blute sich eigne, wird dadurch widerlegt, daß ich nicht nur in dem Destillat aus 50 ccm Blut, denen 0,1 ccm offizineller HCOH-Lösung zugesetzt worden war, sondern auch in demjenigen aus Kaninchenblut, das einem unmittelbar nach einer intravenösen HCOH-Injektion (0,365 ccm 35%iger HCOH-Lösung) gestorbenen Tiere entstammte, durch die Reaktionen von Bono[1]), Leach[2]), Lebbin[3]), Rimini[4]) unzweifelhaft Formaldehyd nachweisen konnte.

Eindeutiger aber für Versuche mit O.Na als die Destillationsmethode — weil auch bei positivem Ausfall beweiskräftig — ist ein Isolierungsverfahren unter Anwendung von Äther, das sich mir in folgender Ausführung bewährt hat. 25 bis 30 ccm defibriniertes Blut werden mit 15 Tropfen Essigsäure (von 30%) versetzt und mit dem dreifachen Volumen

---

[1]) Zusatz von 10 Tropfen wässeriger Phenylhydrazinchlorhydratlösung, 1 Tropfen einer $^1/_2$%igen Natriumnitroprussidlösung und 10 Tropfen einer 10%igen Natronlauge: Blaufärbung.

[2]) Zusatz von 10 ccm Milch, 10 ccm rauchender Salzsäure, 3 Tropfen Eisenchloridlösung (3%). Erhitzen im Schälchen: Violettfärbung.

[3]) $^1/_2$ minutenlanges Kochen von 1 Vol. Formaldehydlösung mit 1 Vol. Natronlauge von 40 bis 50%, der vorher 5% Resorcin zugesetzt wurden: Rotfärbung.

[4]) Mit Phenylhydrazinchlorhydrat, dann mit Eisenchlorid, endlich mit konz. Salzsäure versetzt: Rotfärbung.

Äther in einem weithalsigen Stöpselglase etwa 3 Minuten lang kräftig durchgeschüttelt. Der überstehende Ätherextrakt wird möglichst vollständig dekantiert und in einem kleinen Scheidetrichter mit 10 ccm Wasser kräftig durchgeschüttelt. Der wässerige Auszug wird — unter peinlicher Vermeidung ätherextrakthaltiger Beimischungen — abgetrennt und direkt auf HCOH geprüft. Durch Kontrollversuche an frischem Schweineblut mit entsprechenden Zusätzen von O.Na oder offizineller HCOH-Lösung hat sich feststellen lassen, daß 1. die Anwesenheit von unzersetztem O.Na (0,3 g in 25 ccm Blut) vollkommen negativen Ausfall der Riminischen HCOH-Reaktion bedingt, 2. ein Gehalt von 0,00875 reinem HCOH in 25 ccm Blut mit dieser Reaktion noch deutlich nachweisbar ist, 3. 0,01225 reiner HCOH neben 0,3 CH_2OHSO_3Na noch sehr gut aus 25 ccm Blut isoliert werden können.

Die Ätherextraktionsmethode ist also meinen Zwecken gut angepaßt, d. h. sie eignet sich zur Entscheidung der Frage, ob überhaupt und innerhalb welchen Zeitraumes nach der Verabreichung von O.Na im Blute des Versuchstieres freier Formaldehyd aufzufinden ist, während die Destillationsmethode darüber Aufschluß gibt, wie lange sich unzersetztes O.Na im Blute zu erhalten vermag. Aus Tabelle II, die meine mit der einen oder anderen dieser Methoden erhaltenen Resultate wiedergibt, geht hervor, daß nach intravenöser Einführung reinen Formaldehyds (in einer Dosis von 0,089 pro kg) dieser im Blute eines der Injektion fast unmittelbar darauf erlegenen Kaninchens noch deutlich nachweisbar ist, jedoch bereits vermißt wird, wenn eine kleinere Dosis (0,048 pro kg) verabreicht wurde, und das Tier die Einspritzung auch nur 7 Minuten lang überlebte; auch in weit größerer Menge (0,25 pro kg) per os gegebener HCOH war 24 Stunden später aus dem Blute spurlos verschwunden.

Nach intravenöser Einführung von CH_2OHSO_3Na (in Mengen von 0,5 bis 0,7 pro kg) war die abgespaltene HCOH-Komponente nur bei einem 3 Minuten nach der Injektion entbluteten Kaninchen nachzuweisen — nicht mehr jedoch, wenn diese Frist 15 Minuten oder mehr betrug. Unzersetztes CH_2OHSO_3Na dagegen fand

sich noch 3 Stunden nach seiner Einspritzung in die Blutbahn darin vor; nach Verlauf weiterer 3 Stunden war auch dieses aus dem Blute verschwunden, ebenso wie 1 g — 24 Stunden zuvor innerlich gereichtes — O.Na.

Tabelle II.

Formaldehydnachweis im Blute nach Verabreichungen von HCOH und CH_2OHSO_3Na.

Versuch Nr.	Gewicht des Kaninchens g	Es wurden verabreicht			Entblutung nach	Menge d. zum Nachw. verw. Blutes ccm	Formaldehyd-Reaktion im Destillate	Formaldehyd-Reaktion im Äther-extrakt	Bemerkungen
				pro kg					
1	1820	HCOH	intrav.	0,0875 = 0,048	7 Min.	35	—		Tod unter Konvuls.
2	1440	„	„	0,128 = 0,089	2 „	30	++		„
3	2100	„	per os	0,525 = 0,25	24 St.	35	—		Wohlbef. b. z. Tötung
4	2200	CH_2OHSO_3Na	„	1,0 = 0,45	24 „	40	—		„
5	1800	„	intrav.	1,26 = 0,7	3 Min.	30		+	
6	1770	„	„	1,239 = 0,7	15 „	35		—	
7	1750	„	„	1,225 = 0,7	30 „	23		—	Wohlbef. b. z. Tötung
8	2250	„	„	1,35 = 0,6	30 „	32		—	„
9	1250	„	„	0,75 = 0,6	30 „		++		„
10	1870	„	„	1,309 = 0,7	1½ St.	38		—	„
11	2470	„	„	1,358 = 0,55	1½ „	40	+		„
12	1740	„	„	1,218 = 0,7	3 „	30	schwach +		„
13	2770	„	„	1,385 = 0,5	6 „	63	—		Leichte Dyspnoe

Forscht man nun nach den Vorgängen, die sowohl direkt eingeführten als auch aus O.Na abgespaltenen HCOH dem chemischen Nachweise im Blute entziehen, so sind vornehmlich folgende zwei Möglichkeiten gegeben: Die chemische Bindung an gewisse Blutbestandteile und die Oxydation des HCOH zu HCOOH. Für die erste Möglichkeit sprechen die experimentellen Erfahrungen mehrerer Autoren. So beobachtete Minakow[1]) eine durch HCOH-Zusatz entstehende Gerinnung von Leichenblut, die allerdings bei noch ziemlich starken Lösungen (zu 2,5 bis 5% HCOH) erst nach längerer Zeit eintrat. Günstiger für die Annahme einer chemischen Bindung sind die Befunde von v. Eisler und Löwenstein[2]), nach denen zu Blutserum (auch in sehr geringen Mengen) zugesetzter HCOH

[1]) Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 8, 243, 1897.

[2]) Centralbl. f. Bakt., Origin. 63, H. 2/3, 261, 1912.

an die Eiweißkörper gebunden wird; auch Blum[1]) stellte Verbindungen von HCOH mit Serumalbumin dar und faßte sie — ebenso wie Brunnthaler[2]) — als „Methylenverbindungen der Albumine" auf. Frühere Angaben über wasserlösliche Formaldehydverbindungen der Harnsäure konnten Schittenhelm[3]) sowie Weintraud[4]) bestätigen; Sch. gelang es ferner, HCOH mit Guanin und Xanthin zu kuppeln. Um mich nun selbst darüber zu unterrichten, ob etwa derartigen Bindungsprozessen die Schuld an dem raschen Verschwinden des freien HCOH aus dem Blute meiner Versuchstiere beigemessen werden könnte, habe ich 150 ccm frischen, defibrinierten Schweineblutes mit 1,34 ccm offizineller HCOH-Lösung (= 0,47 HCOH = 2,1 g CH_2OHSO_3Na = ca. 0,7 O.Na pro kg Kaninchen) versetzt und bei 38 bis 40° im Thermostaten gehalten. Nach $1^1/_2$ Stunden wurden 50 ccm der Mischung nach der obigen Methode mit Äther extrahiert: HCOH deutlich nachweisbar. Nach weiteren $4^1/_2$ Stunden ergaben neue 25 ccm der Mischung immer noch positiven Ausfall der HCOH-Reaktion, und selbst noch 24 Stunden nach Beginn des Versuches war freier HCOH mit der Ätherextraktionsmethode sicher nachzuweisen. In vitro verschwindet also künstlich zugesetzter HCOH, wenn überhaupt, dann jedenfalls viel langsamer aus dem Blute als in vivo. Spaltungs-, Bindungs- und Oxydationsprozesse scheinen außerhalb des tierischen Organismus entweder gar nicht oder nur in ganz geringem Maße wirksam zu sein — ein Verhalten, das ich nicht nur beim HCOH, sondern auch beim O.Na feststellen konnte. Denn das Blut eines soeben getöteten Kaninchens, dem 6 Stunden zuvor 0,5 pro kg O.Na intravenös injiziert worden waren, enthält (Tabelle II, Versuch 13) keine Spur des Präparates mehr, während defibriniertes Schweineblut, das mit einem entsprechenden Zusatze von O.Na 6 Stunden lang bei 38 bis 40° digeriert worden war, freien HCOH in das Destillat übertreten ließ, also diesen bzw. noch unzersetztes O.Na enthielt. Grade diesen Nachweis von freiem HCOH, bzw. unzersetztem CH_2OHSO_3Na habe ich dann im Harn nur

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 22, 127, 1896/97.
[2]) Ärztl. Sachverst.-Ztg. 1912, Nr. 7.
[3]) Münch. med. Wochenschr. 1912, Nr. 44.
[4]) Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 1905, II, 2, S. 33.

bei einem einzigen unter 15 hierauf gerichteten Versuchen erbringen können. Diese Versuche betrafen: 2 Kaninchen, die 0,35 bzw. 0,525 HCOH per os erhalten hatten; einen Menschen, der im Laufe von 14 Stunden 9 g O.Na neben der gewohnten gemischten Kost aufgenommen hatte; einen großen Hund, dem an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 10 g O.Na verfüttert worden waren; 4 Kaninchen, denen 0,5 bzw. 1,0 bzw. 2,0 bzw. 2,4 O.Na in wässeriger Lösung mit der Schlundsonde beigebracht worden waren; ein Kaninchen, dem 1,0 O.Na subcutan, sowie 6 weitere, denen verschiedene Dosen (von 0,712 steigend bis zu 1,385 O.Na für das einzelne Tier) intravenös injiziert worden waren. Unter allen diesen Fällen habe ich nur einmal bei einem Kaninchen, dessen Harn zuvor auf die Riminische HCOH-Probe negativ reagiert hatte, $^{1}/_{2}$ Stunde nach intravenöser Einführung von 1,35 O.Na einen positiven Ausfall der genannten Reaktion im Harn erhalten — ein Befund, der sowohl auf die Anwesenheit von freiem HCOH als auch von unzersetztem CH_2OHSO_3Na bezogen werden kann, da, wie ich mich durch Kontrollversuche überzeugte, auch normaler Kaninchenharn mit künstlichem Zusatz von O.Na positiven Rimini ergibt. Bei den 14 anderen Fällen dagegen habe ich freien HCOH sowie unzersetztes CH_2OHSO_3Na stets im Harn vermißt. Dieses Ergebnis findet in den Angaben anderer Autoren teils Bestätigung, teils Widerspruch — Bestätigung insofern, als weder Blum[1]) nach innerlicher noch Gianelli (l. c.) nach subcutaner und rectaler Verabreichung von HCOH diesen im Kaninchenharn jemals wiederfanden; Widerspruch insofern, als nach Filippi und Motolese (l. c.) subcutan injizierter HCOH bei Kaninchen „durch Darm, Lunge und Nieren ausgeschieden" und nach P. Rosenberg[2]), sowie Jacobsen[3]), der als Milchzuckerverbindung verfütterte HCOH mit dem Harn sezerniert wird.

Ohne auf diese gegensätzlichen und zudem mit verschiedenartigen Methoden erhobenen Befunde kritisch eingehen zu wollen, kann ich meine eigenen experimentellen Erfahrungen über das Schicksal und den Verbleib des O.Na im Blut und

[1]) Münchn. med. Wochenschr. 1893, Nr. 32.
[2]) Therap. d. Gegenw. 1905, 160.
[3]) Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 1905, II, 2, 32.

Harn nur dahin zusammenfassen, daß die Aufspaltung des O.Na fast unmittelbar nach seiner direkten Einführung in die Blutbahn beginnt und wahrscheinlich während der nächsten Stunden vollzogen wird, da 3 Stunden nach seiner intravenösen Injektion noch unzersetztes O.Na im Blute nachweisbar ist. Dieses ist nach weiteren 3 Stunden aus dem Blute spurlos verschwunden. Der abgespaltene HCOH findet sich unverändert nur während weniger Minuten nach der intravenösen O.Na-Injektion im Blute vor. Daß der HCOH dann durch Bindung an Eiweißkörper oder andere Bestandteile des Blutes dem chemischen Nachweise entzogen wird, ist nach dem Ausfall einiger Kontrollversuche und besonders auf Grund des Harnbefundes nicht anzunehmen. Wäre der HCOH im Blute nur maskiert, so müßte er nach seinem Übergang in den Harn in diesem bei der Destillation freigemacht und — selbst bei unvollständiger und verlangsamter Ausscheidung — ermittelt werden können. Meine Harnuntersuchungen, die in fast allen Fällen freien HCOH und unzersetztes CH_2OHSO_3Na vermissen ließen, sprechen aber dafür, daß der bei der restlosen Aufspaltung des eingeführten O.Na entwickelte HCOH nach kurzer Zeit nicht nur scheinbar, sondern in Wirklichkeit aus dem Blute verschwindet — und zwar entweder durch Aufnahme in die Gewebe bzw. Organe oder durch Oxydation zu Ameisensäure und weiterhin CO_2 oder durch beide Möglichkeiten zugleich.

Ich habe darauf verzichtet, HCOH bzw. HCOOH in den Organen aufzusuchen und zu bestimmen; ich habe mich vielmehr damit begnügt, die intravitale Aufspaltung des O.Na und die Oxydation seiner Formaldehydkomponente durch den Nachweis vermehrter Ameisensäureausscheidung im Harn festzustellen.

III. Vermehrte Ameisensäureausscheidung nach Einführung von O.Na bei Kaninchen.

Diese Beobachtung wurde bereits einmal von Pohl[1]) gemacht, der einem Hunde von 6600 g subcutan 5 g O.Na injizierte und die an den der Injektion folgenden Tagen im Harn

[1]) Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. 31, 1893.

ausgeführte Ameisensäuremenge bedeutend vermehrt fand; sie betrug nach Pohls Berechnungen, die allerdings — aus später anzuführenden Gründen — noch einer Korrektur bedürfen, an den ersten beiden Tagen nach der Injektion etwa das 5,4 fache und am dritten Tage noch das 3,3 fache der Tagesmenge vor der Injektion. Außer für CH_2OHSO_3Na stellte Pohl noch für andere Methylverbindungen bzw. -derivate (wie Methylalkohol, Methylester, Methylamin, Formaldehyd) eine deutlich steigernde Wirkung auf die HCOOH-Ausscheidung fest. Beim Methylalhohol haben diese Wirkung — oft allerdings in verhältnismäßig geringer Intensität — noch andere Autoren beobachtet, z. B. Bongers[1]), Dakin, Janney und Wakeman[2]), Król[3]), Völtz[4]).

Wie aus den genannten und anderen Arbeiten, deren Angaben auf quantitativen HCOOH-Bestimmungen fußen, hervorgeht, genügt für den Nachweis der Ameisensäure als intravitales Oxydationsprodukt irgendwelcher Methylderivate keineswegs die einfache qualitative Feststellung im Harn, Blut oder anderen Körperflüssigkeiten. Denn wie ich — in Bestätigung zahlreicher experimenteller Erfahrungen — bei Kaninchen mich überzeugt habe, ist die Ameisensäure als ein normales Stoffwechselprodukt und regelmäßiger Bestandteil des normalen Harnes anzusehen. Dies haben insbesondere festgestellt für den Menschen: Dakin, Janney und Wakeman[5]), v. Jaksch[6]), Magnus-Levy[7]), Strisower[8]); für Hunde und Kaninchen: Bonanni[9]), Pohl[10]), Steppuhn und Schellbach[11]); für Kühe: Buliginsky[12]); für Pferde: Schotten[13]).

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **35**, 426, 1895.
[2]) Journ. of Biolog. Chem. **14**, 341 bis 353, 1913.
[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **72**, 444, 1913.
[4]) Medizin. Klinik **1912**, Nr. 17 und diese Zeitschr. **40**, 15.
[5]) l. c.
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**, 536, 1886.
[7]) Salkowski-Festschrift, Berlin 1904, S. 253.
[8]) Diese Zeitschr. **54**, 189, 1913.
[9]) Referate: Maly **35**, 120 und Chem. Centralbl. **78**, **4**, 1803.
[10]) l. c.
[11]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **80**, 274, 1912.
[12]) Hoppe-Seilers med.-chem. Unters. **2**, 240, 1867.
[13]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **7**, 375, 1882/83.

Soll uns also der Ameisensäuregehalt des Harnes als Kriterium der im Organismus abgelaufenen O.Na-Zersetzung dienen, so ist dies nur mit der Maßgabe zulässig, daß wir die vor und nach der Einverleibung des Präparates von dem gleichen Tiere ausgeschiedenen HCOOH-Mengen einander gegenüberstellen und ein in der zweiten Versuchsperiode etwa ermitteltes Plus auf den oxydierten HCOH des eingeführten O.Na beziehen.

Was nun die Ausführung der HCOOH-Bestimmungen betrifft, so stellte sich die Notwendigkeit heraus, die sonst diesem Zweck dienenden biochemischen bzw. harnanalytischen Methoden, unserer besonderen Aufgabe entsprechend, etwas abzuändern. Diese — auch neuerdings wieder mehrfach modifizierten[1]) — Methoden machen sich fast alle das bekannte Scalasche Verfahren zu eigen, nach dessen Prinzip $HgCl_2$ durch Ameisensäure reduziert und das abgeschiedene Hg_2Cl_2 zur Wägung gebracht wird. Bei den Harnen bzw. Harndestillaten meiner Versuchstiere, die CH_2OHSO_3Na erhalten hatten, mußte aber regelmäßig mit der Anwesenheit von Thiosulfaten bzw. schwefliger Säure gerechnet werden. Es war also erforderlich, diese an sich schon $HgCl_2$ reduzierenden Schwefelverbindungen vor dem Sublimatzusatz unschädlich zu machen. Franchini[2]) fand in einer unter Leitung von E. Salkowski ausgeführten Arbeit, daß die Gegenwart von SO_2 ein fehlerhaftes Plus von 0,0035 bis 0,017 HCOOH im 24stündigen Kaninchenharn bedingt. Er beseitigte diese Fehlerquelle durch Oxydation des SO_2 mit Bromwasser (in schwefelsaurer Lösung) zu H_2SO_4. Fincke (l. c.) bewirkt diese Oxydation durch mehrstündige Behandlung mit H_2O_2 bei alkalischer Reaktion. Ich habe die störende schweflige Säure durch nascierenden Wasserstoff reduziert, den entstehenden H_2S an Kupfer gebunden, vom ausgeschiedenen Schwefelmetall abfiltriert und im Filtrat die Ameisensäure nach dem (unbedeutend modifizierten) Verfahren von Franzen und Greve (l. c.) bestimmt. Meine HCOOH-Analysen wurden also nach folgendem Schema ausgeführt: De-

[1]) Dakin, Janney und Wakeman (l. c.). — Fincke, diese Zeitschr. 51, 253, 1913. — Franzen und Greve, Journ. f. prakt. Chem. 188, 368, 1909. — Steppuhn und Schellbach, Zeitschr. f. physiol. Chem. 80, 274, 1912. — Strisower, diese Zeitschr. 54, 189, 1913.

[2]) Diese Zeitschr. 6, 210, 1907.

stillation der mit H_3PO_4 angesäuerten Harne mit strömendem Wasserdampf; Neutralisation der Destillate mit Na_2CO_3; Einengen der Destillate auf ein kleines Volumen; Ansäuern mit H_2SO_4; Zusatz von Zn und $CuSO_4$-Lösung (letztere zur Einleitung der H-Entwicklung und Bindung des entstandenen H_2S); nach 1 Stunde Abfiltrieren vom ausgeschiedenen CuS und überschüssigen Zn; Nachwaschen und Abstumpfung der H_2SO_4 im Filtrat; Zusatz überschüssiger (kalt gesättigter) $HgCl_2$-Lösung; Erwärmen auf dem Wasserbade unter mehrmaliger Neutralisation mit NaOH nach Franzen und Greve; Zusatz von 25%iger HCl; Absitzenlassen in der Kälte (bei Franzen und Greve auf dem Wasserbade); Abfiltrieren, Auswaschen, Trocknen und Wägen des Kalomelniederschlages.

Ich habe mich zunächst durch Kontrollversuche mit gewogenen Mengen von ameisensaurem Natrium davon überzeugt, daß bei Durchführung der beschriebenen Methode durchschnittlich 97% der angewandten HCOOH wieder gefunden werden können. Dieses Resultat erscheint immerhin befriedigend, wenn man berücksichtigt, daß kein auf seine Reinheit geprüftes Natriumformiat als Ausgangsmaterial genommen wurde, und daß die Methode nicht zur Feststellung absoluter Werte, sondern nur zu vergleichenden HCOOH-Bestimmungen behufs Entscheidung einer ganz speziellen Frage dienen sollte.

Diese Frage, ob nämlich nach Einverleibung von O.Na Kaninchen vermehrte HCOOH-Mengen mit dem Harn ausscheiden, habe ich durch die Versuchsanordnung zu beantworten gesucht, daß die HCOOH im Gesamtharn zunächst dreier Normaltage und dann dreier unmittelbar folgender, unter dem Einfluß des Präparates stehender „Versuchstage" bestimmt wurde.

Tabelle III.

Ameisensäureausscheidung vor und nach Einführung von O.Na.

Versuch Nr.	Gewicht d. Kaninchens g	Es wurden eingeführt g	Ameisensäureausscheidung an den		Mehrausscheidung an den Versuchstagen
			3 Normaltagen	3 Versuchstagen	
1	2000	per os . . 1,0	0,0179	0,0255	0,0076
2	1620	per os . . 1,6	0,0612	0,0745	0,0133
3	1870	subcutan . 1,1 [1]	0,0508	0,1225	0,0717

[1]) In Dosen von 0,5 g und 0,6 g an zwei aufeinanderfolgenden Tagen.

Wie aus vorstehender Tabelle ersichtlich, war bei drei Kaninchen die Ameisensäureausscheidung an den der innerlichen oder subcutanen Verabreichung von O.Na folgenden Tagen — der Norm gegenüber — deutlich vermehrt, und zwar um das 1,4 bzw. 1,2fache nach Einführung per os und um das 2,4fache nach subcutaner Injektion. Dabei ist zu berücksichtigen, daß ich nur die im Harn und an den drei ersten Tagen nach der Verabreichung des Präparates ausgeführte Ameisensäure in Betracht gezogen habe. Allerdings dürfte die Bestimmung der später noch ausgeschiedenen Ameisensäuremengen die Resultate nicht sehr erheblich verändert haben. Denn nach den Beobachtungen von Pohl (l. c.) findet die Hauptausscheidung von HCOOH sowohl nach CH_2OHSO_3Na- als auch nach HCOH-Injektion in den ersten 3 Tagen statt; nach Bongers' Versuchen[1]) dauert die HCOOH-Ausscheidung beim Hunde nach rectaler Einführung von Methylalkohol bis zum dritten Tage; nach Steppuhn und Schellbach (l. c.) war bei Kaninchen, die intravenös Natriumformiat erhalten hatten, die Ameisensäureausscheidung im Harn schon nach etwa 24 Stunden beendet. Auf Grund dieser experimentellen Erfahrungen dürfte man also annehmen, daß die nach Einführung von O.Na zu erwartende Mehrausscheidung von HCOOH — ihrer Hauptmenge nach — in den ersten 3 Tagen erfolgt und damit im wesentlichen erledigt ist. Unter dieser Voraussetzung und mit dieser Einschränkung wurden ausgeschieden bei meinem ersten Versuch (Tabelle III) 2,21 %, bei dem zweiten 2,42 %, und bei dem dritten 18,98 % der theoretisch möglichen HCOOH, d. h. der Ameisensäuremenge, die hätte gefunden werden können, wenn der im einverleibten CH_2OHSO_3Na enthaltene HCOH restlos im Organismus abgespalten, zu HCOOH oxydiert und als solche nur im Harn ausgeführt worden wäre. Die Angaben verschiedener Autoren, die sich auf die HCOOH-Ausscheidung unter ähnlichen experimentellen Bedingungen beziehen, differieren beträchtlich untereinander. So wurden von den Versuchshunden Pohls, denen subcutan 5 g O.Na bzw. 1,6 g HCOH injiziert worden war, nur 8 % bzw. etwa 3,4 % der theoretisch

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 35, 426, 1895.

möglichen HCOOH im Harn ausgeschieden; Völtz[1]) fand bei einem Hunde, der täglich 2 ccm Methylalkohol pro 1 kg erhalten hatte, nur soviel HCOOH im Harn wieder, wie durch Oxydation von 6,4 % der täglich verabreichten Methylalkoholration entstanden sein konnte; von subcutan eingeführten Formiaten wurden nach Bonanni[2]) bei Kaninchen bis etwa 26 % von intravenös bzw. per os verabreichten nach Fleig[3]) 64 % bzw. 56 % im Harn ausgeschieden. Wie besonders aus den Angaben Pohls in Übereinstimmung mit den Resultaten meiner Analysen hervorgeht, wird also nur ein kleiner Anteil des in Form von CH_2OHSO_3Na einverleibten HCOH im Harn als HCOOH wiedergefunden. Als Ursachen für dieses Verhalten können intra vitam verschiedene Umstände wirksam sein. Nicht wesentlich in Betracht kommt zunächst die unzureichende Aufspaltung des eingeführten O.Na, die sich ja durch den Nachweis des unveränderten Präparates im Blut oder Harn hätte demonstrieren lassen. Ebensowenig darf man eine längere Retention innerhalb der Organe annehmen, da nach den Beobachtungen Pohls weder Formaldehyd noch Formiate in den Organen aufgespeichert werden. Man wird deshalb für die verhältnismäßig so unbedeutende HCOOH-Ausscheidung in erster Reihe den Oxydationsverlauf verantwortlich machen müssen, und zwar entweder eine quantitativ ungenügende Oxydation des abgespalteten HCOH oder eine qualitativ zu weit, d. h. über HCOOH hinausgehende. Von der ersten Möglichkeit kann bei meinen Versuchen in Anbetracht der von mir fast stets in Harn und Blut nachgewiesenen Abwesenheit freien Formaldehyds keine Rede sein, zumal auch Pohl[4]) die ausgiebige Oxydation von HCOH zu HCOOH durch Leber- und Muskelfermente gezeigt hat. Dagegen ist mit einer Weiteroxydation der einmal im tierischen Organismus gebildeten HCOOH sicher zu rechnen, da nach Fleig (l. c.) Ameisensäure durch Gemische von Blut und frischen Organmacerationen bei Gegenwart von Sauerstoff oxydiert wird. Im Tierversuch stellte

---

[1]) Med. Klin. **1912**, Nr. 17.

[2]) Referate: Maly **35**, 120 und Chem. Centralbl. 78, 4, S. 1803, 1907.

[3]) Compt. rend. de l'Acad. d. Sc. **144**, 386, 1907.

[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **38**, 65, 1897.

Pohl[1]) fest, daß der Hund kleine, per os gegebene Formiatmengen (z. B. weniger als 1 g auf 7 kg Hund) vollständig verbrennt; auch Steppuhn und Schellbach (l. c.) konnten bei Kaninchen nur einen geringen Teil der intravenös injizierten HCOOH im Harn wiederfinden. Die letztgenannten beiden Autoren haben ferner den durch intravitale Oxydation verschwundenen Anteil der verabreichten Ameisensäure ermittelt: Es wurden von der einverleibten HCOOH verbrannt:

bei	Kaninchen	nach	1 bis $1^1/_2$	Std.	etwa $^1/_3$,
„	Hunden	„	$1^1/_4$	„	„ die Hälfte,
„	Ratten	„	14	„	45,57%,
„	„	„	4	„	33,78%.

Alle diese experimentellen Erfahrungen sprechen für die Wahrscheinlichkeit der Annahme, daß der bei meinen Versuchen in Form von CH_2OHSO_3Na eingeführte HCOH zwar zum weitaus größten Teile im Organismus abgespalten und oxydiert wird, aber nur zu einem mehr oder minder geringen Prozentsatz der theoretisch möglichen Menge als Ameisensäure zur Ausscheidung gelangt, da die intra vitam gebildete Ameisensäure — als intermediäres Oxydationsprodukt — nur vorübergehend im Körper kreist und dann anscheinend ziemlich rasch zu CO_2 verbrannt wird.

IV. Aussichten einer therapeutischen O.Na-Verwendung.

Könnte man die im Tier-, insbesondere im Kaninchenversuch, als im allgemeinen unschädlich erprobte O.Na-Dosis auf die menschliche Therapie übertragen, so würde sich die Möglichkeit ergeben, verhältnismäßig sehr bedeutende Mengen von HCOH und SO_2 in Form von CH_2OHSO_3Na dem Körper einzuverleiben. Einer Dosis von 1 g O.Na pro 1 kg Tier, die von Kaninchen im allgemeinen anstandslos per os vertragen wird, würden für den Menschen etwa 70 g des Präparates (mit 15,67 HCOH und 33,43 SO_2) entsprechen. Gegen eine mit so großen Dosen operierende oder über eine längere Zeit ausgedehnte O.Na-Therapie würden aber — ganz abgesehen von den praktischen Schwierigkeiten und dem Kostenpunkt[2]) — die schon erwähnten Beobachtungen von O. Loeb[3]) sprechen, der bei Kaninchen durch wochenlang fortgesetzte Darreichung von O.Na typische Arterionekrosen erzeugen konnte. Allerdings hatte

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **31**, 281, 1893.

[2]) 1 kg Formaldehydnatriumbisulfit kostet 22,50 Mark.

[3]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **69**, 114, 1912.

Loeb seinen 3 Versuchstieren 22 Dosen zu je 1,0 bzw. 13 Dosen zu je 1,0 bzw. 25 Dosen zu je 1,5 in fast ununterbrochener Folge eingegeben und andererseits die genannten Arterienveränderungen bei Ratten, Katzen und Hunden vermißt. Immerhin können die anatomischen Befunde Loebs, die in gleichem Sinne auch nach Einführung von reinem Formaldehyd und von Helmitol (anhydromethylencitronensaures Hexamethylentetramin) positiv ausgefallen waren, Bedenken gegen eine allzu energische und ausgedehnte interne HCOH-Therapie mit O.Na erregen. Es erscheint um so notwendiger, derartige Bedenken ausdrücklich hervorzuheben, als man ja an eine pharmakodynamische Ausnutzung der HCOH-Komponente im O.Na zunächst denken wird, wie es auch Vahlen (l. c.) bei seinen — bisher wohl vereinzelt gebliebenen — Heilversuchen mit O.Na getan hat. Vahlen beobachtete bei Kaninchen, denen zuerst intravenös Staphylokokken und 3 bis 5 Stunden später subcutan 1 bzw. 2 g der Substanz injiziert wurden, ein wechselndes Verhalten der Körpertemperatur, keinesfalls aber ein eindeutiges Ergebnis seiner therapeutischen Versuche. Zu deren Kritik wäre allerdings zu bemerken, daß der Fieberabfall nicht unbedingt und allein maßgebend für die bactericide Wirkung eines Mittels ist. Vahlens Versuche dürften also noch kein Urteil über den Wert oder Unwert des O.Na als „inneres Desinfiziens" gestatten. Es erscheint m. E. vielleicht lohnend, die „innere" Desinfektionswirkung des Präparates von neuem experimentell zu prüfen, zumal da G. Uhland[1]) festgestellt hat, daß zur Desinfektion des milzbrandbacillenhaltigen Blutes beim lebenden Kaninchen erheblich weniger HCOH erforderlich ist, als die Dosis tolerata (bei intravenöser Injektion 2%iger Formaldehydlösungen) beträgt. Uhland fand ferner, daß bei gleichzeitiger Milzbrandinfektion und HCOH-Injektion der Eintritt des Todes erheblich verzögert, bei vorbeugender HCOH-Medikation in allen Fällen verhindert wurde. Bemerkenswert ist dabei, daß diese vorbeugende Heilwirkung auch bei einzelnen Tieren eintrat, die erst 3 bis 4 Tage nach der HCOH-Injektion mit Milzbrand infiziert wurden — also zu einem Zeitpunkt, in dem der größte Teil des eingespritzten HCOH schon wieder aus dem Blute bzw. dem Körper verschwunden sein mußte. Es dürfte sich also, wie Uhland mit Recht hervorhebt, bei der internen HCOH-Therapie um keine direkte Desinfektion im Sinne einer Bactericidie, sondern vielleicht um eine indirekte Mitwirkung der Leukocyten handeln, welch letztere Uhland insofern nachweisen konnte, als bei Kaninchen nach intravenöser HCOH-Injektion zunächst ein starker Leukocytensturz und dann eine bedeutende Vermehrung dieser Blutkörperchen auftrat. Entsprechende anatomische Bedingungen mögen auch den günstigen therapeutischen Erfolgen zugrunde liegen, die P. Rosenberg[2]) bei verschiedenen Infektionskrankheiten wie Angina, Diphtherie, Scharlach, Erysipel, Pyämie mit innerlicher Formaldehydmedikation (durch Verabreichung einer Formaldehydmilchzuckerverbindueg) erzielt hat.

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. **57**, I, 155, 1911.

[2]) Therapie d. Gegenw. **1905**, 55.

Welche dieser beiden Wirkungsarten — die bactericide oder die leukocytäre — bei der „inneren" Desinfektion mit O.Na in Betracht kommen könnte, ist um so müßiger zu erörtern, als die desinfizierende Kraft des Mittels im Tierversuch überhaupt erst erwiesen werden müßte. Die Aussichten solcher Versuche erscheinen — im Rückblick auf die Uhlandschen Resultate — durchaus nicht ungünstig. Wenn wenigstens der Ausfall der Desinfektionswirkung allein von der Menge des eingeführten HCOH abhinge, müßten sich die Uhlandschen Versuche mit dem gleichen oder sogar besseren Erfolge auch bei der O.Na-Therapie reproduzieren lassen. Denn es kann, wie meine Versuche ergeben haben, dem Kaninchen in Form von CH_2OHSO_3Na eine erheblich größere (etwa die $2^1/_2$ fache) Formaldehydmenge ohne Schaden intravenös verabreicht werden, als bei Injektion reiner, wässeriger HCOH-Lösungen gewagt werden könnte. Sicherlich aber wird die desinfizierende (wie auch jede andere therapeutische) Wirkung eines Formaldehydpräparates nicht allein durch die absolute Menge des mit diesem einverleibten HCOH, sondern auch durch die Schnelligkeit, die Dauer und den Ort der effektiven Formaldehydaktion im Organismus bedingt. In dieser Hinsicht haben meine Versuche ergeben, daß bezüglich des Zeitraumes, während dessen HCOH in freiem, also eigentlich aktionsfähigem Zustande im Blute nachweisbar war, keine wesentlichen Unterschiede bestanden, ob nun der HCOH als solcher oder als CH_2OHSO_3Na injiziert worden war. In beiden Fällen betrug dieser Zeitraum nur wenige Minuten. Allerdings steht bei dem in ungebundenem Zustande gegebenen HCOH eine relativ große Menge der wirksamen Substanz, nämlich die volle injizierte Dosis sofort und auf einmal zur Verfügung, bei Einführung von O.Na dagegen eine zwar absolut viel bedeutendere HCOH-Menge, jedoch gewissermaßen nur in refracta dosi — entsprechend der im Laufe mehrerer Stunden allmählich erfolgenden Abspaltung. Es wäre noch experimentell zu entscheiden, welche der beiden Wirkungsmöglichkeiten in vollkommenerer Weise den an ein „inneres" Desinfiziens zu stellenden Anforderungen genügen würde.

Andere Erwägungen und besondere, mehr lokal-therapeutische Gesichtspunkte sind maßgebend für die Bewertung des O.Na als harnlösendes Mittel, welche Indikation der internen Formaldehydverwendung u. a. Klemperer[1]) und Weintraud[2]) aufgestellt haben, oder als Harnantisepticum, dessen Motivierung durch die zahlreichen günstigen, mit Hexamethylentetramin und seinen Derivaten gemachten klinischen Erfahrungen gegeben wäre. Diese Indikationen würden — als notwendige Vorbedingung einer tatsächlichen Heilwirkung — den Übertritt ausreichender Formaldehydmengen in den Harn erfordern, und zwar in ungebundener oder wenigstens innerhalb der Harnwege leicht abspaltbarer Form. Eine derartige Bedingung vermag aber die O.Na-Therapie nicht zu erfüllen. Denn, wie meine Versuche ergeben haben, wird nach

[1]) Therapie d. Gegenw. **1905**, S. 55.

[2]) Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte 2, II, 33, 1905.

O.Na-Verabreichung fast niemals freier oder locker gebundener HCOH oder auch nur unverändertes CH_2OHSO_2Na ausgeschieden. Selbst wenn letzterer Effekt durch eine Überschwemmung des Organismus mit O.Na erzwungen werden könnte, würde damit doch so gut wie nichts für eine wirksame Harndesinfektion erreicht werden; denn weder besitzen selbst 1%ige Auflösungen von O.Na in normalem menschlichem Harn irgendwie nennenswerte konservierende oder antiseptische Eigenschaften, noch vermag, wie mich Versuche mit saurem oder schwach alkalisiertem menschlichem Harn gelehrt haben, ein Harn mit 1% O.Na-Gehalt bei einstündigem Aufenthalt im Thermostaten freien HCOH zu entwickeln.

Von seiten der Formaldehydkomponente sind also wohl kaum praktische Erfolge für eine Harndesinfektion vermittels O.Na zu erwarten. Die einzige Hoffnung, die sich in dieser Hinsicht bietet, gründet sich auf den Übergang der intravitalen Oxydationsprodukte des O.Na in den Harn, d. h. der Ameisensäure und der Schwefelsäure, die wohl durch Erhöhung der Acidität zur Verhütung und Bekämpfung der ammoniakalischen Harnzersetzung als auch durch spezifische antibakterielle Eigenschaften zur Desinfektion der Harnwege beitragen könnten. Antiseptische Eigenschaften kommen aber, wie G. Hoffmann[1]) nachgewiesen hat, nur der freien Ameisensäure und nicht den Formiaten zu. Eine wirksame Harndesinfektion durch die nach O.Na-Gebrauch ausgeschiedene Ameisensäure könnte also nur dann zustande kommen, wenn der betreffende Harn die Ameisensäure in freiem Zustande und außerdem in genügender Konzentration enthielte. An der Verstärkung der Harnacidität aber dürfte neben der HCOOH vor allem der durch intravitale Sulfitoxydation anschwellende Schwefelsäuregehalt beteiligt sein. Daß in der Tat die Aciditätsverhältnisse des Harnes durch Verabreichung von O.Na entschieden beeinflußt werden können, habe ich bei einer Anzahl von Kaninchen (durchaus nicht bei allen!), denen O.Na per os, subcutan und intravenös gegeben wurde, beobachtet. Zwei Kaninchen, die vor Beginn des Versuches bei Kohlfütterung alkalischen Harn hatten, entleerten in den ersten 24 Stunden nach Verfütterung von 1 g O.Na pro kg sauren Harn, der aber bereits 48 Stunden nach der O.Na-Gabe wieder alkalische Reaktion annahm. Bei einem Kaninchen (mit zuvor alkalischem Harn) zeigte die erste, 2 Stunden nach subcutaner Injektion von 0,5 g O.Na entleerte Harnportion saure Reaktion. Am auffallendsten war die Beeinflussung der Harnacidität bei einem Kaninchen, dessen Harn 6 Stunden nach intravenöser Einführung von 1 g O.Na zum ersten Male saure Reaktion aufwies und 2 Tage lange beibehielt. um dann wieder alkalisch zu werden. Bemerkenswert war auch folgender Befund bei einem 21 kg schweren Hunde: Das Tier entleerte vor dem Versuche einen trüben, alkalischen Harn; es erhielt dann an drei aufeinanderfolgenden Tagen per os je 10 g O.Na mit dem Erfolge, daß

[1]) Dissertation Greifswald 1884.

bereits der in den ersten 24 Stunden gelieferte Harn stark sauer reagierte und während der ganzen Beobachtungszeit kein alkalischer Harn mehr ausgeschieden wurde. Es erscheint selbstverständlich unzulässig, aus diesen wenigen Tierversuchen irgendwelche Schlüsse auf die klinische Verwendbarkeit des O.Na zu ziehen. Doch, selbst wenn derartige Folgerungen statthaft wären, müßten immer noch die enormen Dosen Bedenken erregen, mit denen man in der menschlichen Therapie wahrscheinlich operieren müßte, um die Aciditätsverhältnisse des Harnes mit einiger Aussicht auf praktische Erfolge beeinflussen zu können. Eine Empfehlung des O.Na als harnsäurelösendes oder harndesinfizierendes Mittel dürfte also auf Grund meiner experimentellen Erfahrungen kaum gerechtfertigt sein.

Die nach Einführung von O.Na im Organismus sich abspielende und schließlich zu gesteigerter Schwefelsäureausscheidung führende Oxydation der Sulfitkomponente legte den Gedanken nahe, diesen status nascendi der Schwefelsäure noch für einen anderen therapeutischen Zweck auszunützen: Die intravitale Entgiftung von Phenol, und zwar nicht des im normalen Stoffwechsel gebildeten, sondern des von außen mit der Absicht der Vergiftung zugeführten. Hatte doch Tauber[1]) — im Gegensatz zu Baumann[2]) — die Ansicht ausgesprochen, daß Phenylschwefelsäure im Tierkörper nicht aus fertig gebildeter, sondern aus nascierender H_2SO_4 entsteht, und deshalb — an Stelle des von Baumann empfohlenen Na_2SO_4 — die Sulfite im Tierversuch als Antidote bei Carbolsäurevergiftung geprüft. Auch Sato[3]) hat bei Kaninchen, denen Phenol und Cystin bzw. Sulfidal (kolloidal. Schwefel) per os verabreicht wurden, eine gesteigerte Ausscheidung der Ätherschwefelsäure gefunden und demgemäß die Meinung ausgesprochen, daß „theoretisch Cystin und Sulfidal als Antidote der Phenolvergiftung angesehen werden" müßten. Tauber hatte (außer mit Na_2SO_3) auch mit acetaldehydschwefligsaurem Natrium Entgiftungsversuche an Kaninchen angestellt — allerdings mit nur wenig günstigem Ergebnis, da es ihm nur bei einem Tier gelungen war, die sicher tödliche Phenoldosis mit $C_2H_4OHSO_3Na$ unschädlich zu machen, während bei mehreren anderen, mit Phenol subcutan und per os vergifteten Kaninchen der tödliche Ausgang nur um 3 bis 4 Stunden hinausgeschoben wurde. Versuche mit O.Na mußten also als nicht besonders aussichtsreich erscheinen. Ich habe denn auch 2 Kaninchen, die mit der sicher tödlichen Phenoldosis[4]) subcutan bzw. per os vergiftet worden waren, durch sofort intravenös verabfolgte An-

---

[1]) Arch. f. experim. Pathol. und Pharmakol. **36**, 197, 1895.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **9**, 54; Arch. f. d. ges. Physiol. **13**, 285 bis 308.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **63**, 378, 1909.

[4]) Diese wird von Tauber für Kaninchen zu 0,55 pro kg bei subcutaner und 0,8 pro kg bei innerlicher Verabreichung angegeben. Sie beträgt nach Duplay und Cazin (Compt. rend. **112**, 627 bis 630, 1891) 0,514 pro kg subcutan.

tidotgaben von 0,7 bzw. 0,6 pro kg O.Na nicht retten können; beide Tiere gingen unter Krämpfen 20 bzw. 30 Minuten später zugrunde. Auch Vorbehandlung mit dem Antidot (per os 4 Std. vor der Intoxikation 1,0 pro kg und subcutan 10 Min. vor der Intoxikation noch 0,45 pro kg) vermochte nicht, ein Kaninchen gegen die tödliche Wirkung einer intravenösen Phenolinjektion (0,15 pro kg) zu schützen. Bessere Erfolge hatte ich bei der Bekämpfung eines typischen Symptoms der akuten Phenolvergiftung: Der Konvulsionen, deren Entstehung von Salkowski [1]) und — in Bestätigung seiner Befunde — später auch von Baglioni [2]) auf eine gesteigerte Erregbarkeit motorischer Rückenmarkselemente zurückgeführt worden ist. Nach Salkowskis Schilderung des Vergiftungsbildes beginnen beim Kaninchen wenige Minuten nach Einführung des Phenols an den verschiedensten Körperstellen Zuckungen in einzelnen Muskelbündeln; es folgen starkes allgemeines Zittern, dann klonische Zuckungen und äußerst frequente Respiration. Die tonischen und klonischen Krämpfe bestehen bei mittleren, jedoch noch zum Tode führenden Dosen etwa eine Stunde in gleicher Heftigkeit, werden dann allmählich schwächer, dauern aber bis zum Tode fort. Den hier beschriebenen Intoxikationsverlauf, jedoch ohne tödlichen Ausgang habe ich z. B. bei Kaninchen beobachtet, denen 0,35 bis 0,36 g [3]) Phenol pro kg in wässeriger Lösung per os gegeben wurde: Beginn der Krämpfe 3 bis 5 Minuten nach Beendigung der Eingießung; Nachlassen derselben und Erholung des Tieres nach 45 bis 60 Minuten. Injiziert man nun dem phenolvergifteten Kaninchen sofort nach dem Herausziehen der Schlundsonde eine wässerige O.Na-Lösung in die Ohrvene, so treten, wie ich bei 3 Tieren gefunden habe, überhaupt keine Krämpfe auf. In einem Falle, bei dem sich die Antidotinjektion um etwa 2 Minuten vorzögert hatte, konnte zwar der Ausbruch der Konvulsionen nicht verhütet werden; diese wurden jedoch bereits nach 13 Minuten coupiert, während man sonst (beim antidotfreien Tiere) sicher mit einer ca. einstündigen Dauer der Krämpfe hätte rechnen müssen. Der schließliche Ausgang der Vergiftungen scheint von der Höhe der verabreichten Antidotdosis abzuhängen. Denn zwei meiner Kaninchen, die 0,7 pro kg Antidot erhalten hatten, gingen — trotz wirksamer Bekämpfung der Konvulsionen — doch noch nach $^3/_4$ bzw. $2^1/_2$ Stunden im Kollaps zugrunde, während zwei andere Tiere, mit einer Antidotgabe von nur 0,5 pro kg keinerlei Vergiftungserscheinungen zeigten und am Leben blieben. Vorsicht in der Dosierung dieses offenbar keineswegs harmlosen Antidots ist also durchaus geboten, da sich die toxischen Einzelwirkungen des Phenols und des O.Na unter Umständen in fataler Weise summieren können.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. 5, 335, 1872.

[2]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1900, Suppl. B., S. 193; Zeitschr. f. allgem. Physiol. 3, 313 bis 358, 1904.

[3]) Als krampferregende Dosis werden von Duplay und Cazin (l. c.) beim Meerschweinchen 0,445 pro kg und beim Hunde 0,266 pro kg subcutan angegeben.

Ferner habe ich den antikonvulsivischen Effekt des O.Na unter Bedingungen geprüft, die den wirklichen Verhältnissen eines klinischen Vergiftungsfalles besser entsprachen, d. h. ich habe das Antidot nicht unmittelbar nach der Aufnahme des Giftes, sondern erst zu einem Zeitpunkt gegeben, als die Krämpfe bereits auf voller Höhe standen (20 Minuten post intox.). Nach dieser Versuchsanordnung konnten bei einem Kaninchen, das mit 0,35 pro kg Phenol per os vergiftet worden war, die Krämpfe in 10 Minuten coupiert und weitere schädlichen Folgen verhütet werden; bei einem anderen Kaninchen, das allerdings 0,49 pro kg Phenol erhalten hatte, vermochte das 20 Minuten später gegebene Antidot nicht mehr die gewöhnliche Dauer der Krämpfe abzukürzen, wohl aber den zur Zeit bestehenden, äußerst schweren Allgemeinzustand (kollapsartige Prostration) fast augenblicklich zu heben. Zusammenfassend läßt sich also über den Wert des O.Na als Antidot bei experimenteller Phenolvergiftung der Kaninchen sagen, daß es die tödliche Wirkung sicher letaler Phenoldosen nicht aufzuheben, jedoch — in nicht zu hoher Dosis (etwa 0,5 pro kg) und möglichst rasch intravenös verabreicht — den Ausbruch der Phenolkrämpfe zu verhüten oder deren Dauer abzukürzen vermag. Vor zu hohen Antidotgaben (über 0,5 pro kg) ist entschieden zu warnen. Zur Erklärung des antikonvulsivischen Effektes könnten die Feststellungen Baglionis (l. c.) herangezogen werden, daß alle die von ihm geprüften, im Tierversuch klonische Zuckungen erregenden Verbindungen in ihrer Konstitution einen Benzolkern, an den ein oder mehrere Hydroxyle gebunden sind, aufweisen. Baglionis Erfahrungen bestätigen also die Richtigkeit unserer Vorstellung, daß durch die Bildung der Phenolschwefelsäure im Organismus, d. h. durch die Besetzung des Hydroxyls ($C_6H_5.O.SO_2.OH$) die Krampfwirkung des Phenols aufgehoben wird. Diese Erklärung aber stimmt gut mit der zuerst von Baumann und dann auch von Auerbach[1]) festgestellten Ungiftigkeit der phenolschwefelsauren Salze überein.

Die nach Einführung von O.Na auftretende Steigerung der HCOOH- und, wie als durchaus wahrscheinlich anzunehmen, auch der H_2SO_4-Ausscheidung läßt sich kaum anders erklären als durch Formaldehyd- sowie Sulfitoxydation innerhalb der Gewebe. Von dieser intravitalen Reduktionswirkung des O.Na habe ich mich noch auf direkte Weise zu überzeugen versucht, und zwar vermittels Methylenblau, auf dessen Anwendbarkeit für derartige Demonstrationen Ehrlich[2]) bereits vor längerer Zeit (im Anschluß an seine Untersuchungen über das „Sauerstoffbedürfnis des Organismus"[3]) aufmerksam gemacht hat. Ehrlich fand, wenn er Kaninchen „eine größere Menge" Methylenblau intravenös verabfogt hatte, die Mehrzahl der Parenchyme mehr oder weniger stark primär gefärbt; nur wenige reduktionskräftige Organe ent-

[1]) Virchows Archiv 77, 226, 1879.
[2]) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1885, Nr. 8.
[3]) Berlin 1885.

hielten das Leukoprodukt des Farbstoffs. Insbesondere war die Nierenrinde, wie auch später Dreser[1]) für bestimmte Versuchsbedingungen anerkannt hat, regelmäßig farbstoffhaltig. In Übereinstimmung mit diesem Befunde habe ich bei 5 Kaninchen, denen eine wässerige Lösung von je 0,05 g Methylenblau in die Ohrvene injiziert worden war, die Nierenrinde grün, bzw. grünblau gefärbt gefunden. Unter den 5 Tieren waren 2, die $^1/_2$ bzw. 1 Stunde nach der Einspritzung getötet wurden und zu diesem Zeitpunkt fast alle Organe — eben mit Ausnahme der Nieren — entfärbt zeigten. Bei den drei anderen Kaninchen, die bereits nach 5 Minuten getötet wurden, wiesen die einzelnen Organe einen wechselnden, aber deutlich wahrnehmbaren Farbstoffgehalt auf, da die kurze Zeitspanne zur vollständigen Reduktion des Methylenblaus nicht ausgereicht hatte. Im Gegensatz zu diesen fünf waren die Nieren zweier Kaninchen, die zunächst je 1,5 g O.Na subcutan, 15 Minuten später je 0,05 g Methylenblau intravenös erhielten und nach weiteren 5 Minuten zur Autopsie kamen, völlig farbstofffrei. Man darf diesen Befund als Beweis einer intravitalen Reduktionswirkung des O.Na insofern gelten lassen, als die Bildung des Leukoproduktes erst nach Vorbehandlung mit dem Mittel, also erst bei gleichzeitiger Anwesenheit von Methylenblau und O.Na in der lebenden Niere beobachtet wurde. Wenn nun O.Na wirklich innerhalb des Organismus und insbesondere innerhalb der lebenden Niere Methylenblau zu reduzieren vermag, so muß ein derartiges Verhalten auch in einer temporär veränderten Beschaffenheit des Harnes zum Ausdruck kommen. Für die Richtigkeit dieser Annahme mögen zwei (übereinstimmend durchgeführte) Selbstversuche sprechen: Ich nahm eine einmalige Dosis von 0,1 Methylenblau. 24 Stunden später war die Methylenblauausscheidung noch so stark, daß der Harn dunkelgrün gefärbt war. Zu diesem Zeitpunkt entleerte ich zunächst die Blase, trank 100 ccm Wasser und sammelte den innerhalb der nächsten Stunde abgeschiedenen Harn in einem Meßzylinder. Die Harne der 1. Stunde waren in beiden Versuchen dunkelgrün gefärbt und betrugen 95 bzw. 87 ccm. Nunmehr nahm ich 2 g O.Na, gelöst in 100 ccm Wasser. Die nach Ablauf der 2. Stunde in einen Meßzylinder gleichen Kalibers entleerten Harne betrugen nur 75 bzw. 70 ccm und waren gleichwohl deutlich heller, mehr gelblichgrün. Die Farbstoffausscheidung erreichte dann bald wieder ihre vorige Höhe, um am nächsten bzw. übernächsten Tage endgültig zu versiegen. Es mußte also unter dem Einflusse des O.Na im Organismus eine gesteigerte Methylenblaureduktion — vielleicht mit vorübergehender Mehrausfuhr des Leukoproduktes — stattgefunden haben.

Die bei den Selbst- und Kaninchenversuchen gemachten Beobachtungen rechtfertigen immerhin eine Verwendung des O.Na für pharmakodynamische Aufgaben, bei denen — als „Adjuvans“ — eine gleichzeitige Reduktionswirkung erstrebt wird. In dieser

[1]) Zeitschr. f. Biol. 22, 56 bis 63, 1886.

Richtung ist auch **Ehrlich** bei der Synthese seines Neosalvarsans aus Salvarsan und formaldehydsulfoxylsaurem Natrium bereits vorgegangen.

Zusammenfassung.

Oxymethansulfonsaures Natrium (O.Na) wird bei Aufnahme per os in verhältnismäßig großen Mengen ohne wahrnehmbare Beeinträchtigung des Allgemeinbefindens vertragen; z. B. vom Menschen 9 g (innerhalb 14 Stunden), vom Hunde 30 g (innerhalb 3 Tagen), von einer Reihe von Kaninchen — auch subcutan — in Dosen bis zu 1 g pro Kilogramm. Nach intravenöser Einführung treten bei einigen Kaninchen leichtere Vergiftungserscheinungen (mit tödlichem Ausgange in einem Falle) auf. Durch die Bindung an schweflige Säure, wie sie im O.Na vorliegt, wird die Giftigkeit des Formaldehyds erheblich vermindert.

Die Aufspaltung des O.Na beginnt fast unmittelbar nach seiner direkten Einführung in die Blutbahn und wird während der nächsten 3 bis 6 Stunden restlos vollzogen. Der abgespaltene Formaldehyd findet sich in freier Form nur während weniger Minuten nach der intravenösen O.Na-Injektion im Blute vor. Im Harne läßt sich nach Verabreichung von O.Na weder freier Formaldehyd noch unverändertes O.Na nachweisen. Die alkalische Reaktion des Kaninchenharns kann nach innerlicher und subcutaner Einführung von O.Na vorübergehend sauer werden. Bei mit Weißkohl gefütterten Kaninchen wird die Thiosulfat- und Ameisensäureausscheidung deutlich gesteigert, letztere aber nur zu einem mehr oder minder geringen Prozentsatz der dem verabfolgten O.Na entsprechenden Ameisensäuremenge.

Die Wirksamkeit des O.Na als „inneres Desinfiziens" müßte im Tierversuch festgestellt werden. Die Aussichten derartiger Versuche sind als nicht ungünstig zu bezeichnen. Eine Empfehlung als harnsäurelösendes oder harndesinfizierendes Mittel ist kaum gerechtfertigt. Als Antidot bei experimenteller Phenolvergiftung der Kaninchen vermag O.Na die tödliche Wirkung sicher letaler Phenoldosen nicht aufzuheben, jedoch — in nicht zu hoher Dosis (etwa 0,5 pro Kilogramm) und möglichst rasch intravenös verabreicht — den Ausbruch der Phenolkrämpfe zu verhüten oder deren Dauer abzukürzen. Vor zu hohen Antidotgaben (über 0,5 pro Kilogramm) ist zu warnen.

Unter dem Einflusse von O.Na findet im Organismus eine gesteigerte Methylenblaureduktion statt; es käme deshalb unter Umständen eine pharmakodynamische Ausnutzung dieser Reduktionswirkungen in Betracht.

Nachtrag.

Nach Abschluß meiner Versuche, deren Veröffentlichung sich aus äußeren Gründen verzögert hat, sind noch zwei Arbeiten von H. Fincke[1]) zur Methodik des Formaldehydnachweises erschienen. Fincke empfiehlt hier als äußerst empfindliche Formaldehydprobe die Reaktion mittels fuchsinschwefliger Säure in salzsaurer Lösung nach Große-Bohle; ferner findet sich bei Fincke der Hinweis, daß die Destillation unter Phosphersäurezusatz zur Abspaltung des gesamten HCOH aus CH_2OHSO_3Na nicht genüge; erst durch Destillation bei größerem Na_2CO_3-Überschuß gelänge es, HCOH völlig freizumachen. Mit Bezug auf die letztere Angabe habe ich, wie auf S. 72 erwähnt, einige bestätigende Feststellungen machen können. In Anbetracht der keineswegs geringen Empfindlichkeit und sonstigen Zuverlässigkeit der von mir angewandten Proben nach Leach, Rimini und Lebbin glaubte ich, von einer Wiederholung aller entsprechenden Tierversuche absehen zu können. Immerhin besteht die Möglichkeit, daß unter Berücksichtigung der von Fincke gegebenen Hinweise ein späteres Verschwinden von freiem Formaldehyd und ungespaltenem O.Na aus dem zirkulierenden Blute hätte nachgewiesen werden können. Hinsichtlich der Ausscheidungsverhältnisse habe ich mich noch davon überzeugt, daß beim Kaninchen nach innerlicher und subcutaner O.Na-Darreichung freier HCOH und unverändertes CH_2OHSO_3Na auch dann im Harn vermißt werden, wenn der Formaldehydnachweis durch Destillation bei stark alkalischer Reaktion versucht wird.

[1]) Diese Zeitschr. 52, 219, 1913 und Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. usw. 27, 253, 1914.

Über die direkte Fixierung von Metallen durch Proteinsubstanzen.

Von

A. Benedicenti und **S. Rebello-Alves.**

(Aus dem Laboratorium für experimentelle Pharmakologie der Kgl. Universität Genua.)

(Eingegangen am 22. Mai 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Um die Veränderungen der magnetischen Eigenschaften von Metallen, die mit undialysierten Proteinkolloiden in Berührung gebracht werden (Blutserum, Eieralbumin), unter Zuhilfenahme der in einer vorangegangenen Mitteilung[1]) beschriebenen Methode, näher zu untersuchen, wurde eine Reihe von Experimenten ausgeführt, indem nicht Metallsalzlösungen verwendet wurden, sondern direkt die betreffenden Metalle, und zwar aus dem Grunde, weil bei den ersteren nicht nur die auf das Kolloid ausgeübte Wirkung des Kations, sondern auch die vielfach wichtige und komplexe des Anions ins Auge zu fassen ist.

Bei diesen ersteren Versuchen benützten wir das Blutserum. das mit reinstem (Kahlbaum), im Laboratorium noch länger reduziertem und feinst gepulvertem Eisen geschüttelt wurde. Das Schütteln wurde in einem vollständig gefüllten Rohr ausgeführt, so daß die Gegenwart von Luftblasen im Innern desselben ausgeschlossen war und die in der Flüssigkeit in Form von Schaum verteilte Luft nicht auf das feingepulverte Metall einwirken könnte. Es ist leicht zu ersehen, daß das in dieser Weise behandelte Serum eine gewisse Menge Metall gebunden hat, und daß dasselbe in seinen charakteristischen Eigenschaften denaturiert wird, indem es, mindestens zum Teil, nicht mehr fault und nicht mehr durch Hitze koaguliert. Daraus kann

[1]) Diese Zeitschr. 63, 276, 1914.

man die erste Schlußfolgerung ziehen, daß das Eisenpulver mechanisch suspendiert bleibt, wie es bei anderen pulverförmigen Substanzen (Kohle, Ultramarin, Talk usw.) der Fall ist. Diese Vermutung erweist sich aber als nicht zutreffend, weil das mit dem Eisen geschüttelte, dann filtrierte und zentrifugierte Serum eine ganz klare Flüssigkeit darstellt, in der auch nicht mit den größten Mikroskopvergrößerungen die Gegenwart von Metallkörnchen nachzuweisen ist.

Das fixierte Eisen, könnten wir uns weiter denken, sei in einen beständigen kolloidalen Zustand in Form feinster Verteilung übergegangen. In der Tat ist schon bekannt, daß durch mechanische Auflockerung einiger festen Stoffe eine partielle Auflösung derselben entstehen kann, indem letztere manchmal teils zu einem Hydrosol suspendiert bleiben.

Nach den von Mengarini-Traube[1]), Scarpa u. a. aus geführten Versuchen ist nachgewiesen worden, daß auch bei absolut glatten Metallblechen, unter destilliertem Wasser und im Vakuum längere Zeit aufbewahrt, sich spontan kolloidale Teilchen losmachen. Dazu ist, unter den bei diesen Untersuchungen herrschenden Bedingungen, eine ziemlich lange Zeit (einige Monate) notwendig; es würde jedoch anzunehmen sein, daß durch das Schütteln sich leichter die kolloidalen Teilchen aus dem Eisenpulver losmachen und von der Proteinlösung (Serum), die als stabilisierend wirken würde, nach und nach fixiert werden sollten; es würde also dieselbe Erscheinung wie bei den Versuchen von Lewis und Waumsley[2]) eintreten, bei denen eine mit Gummi und Schwefelkohlenstoff versetzte Benzollösung, mit Bleipulver geschüttelt, sich färbte, was auf Bildung von Bleischwefel zurückzuführen war, der, je nach seiner Entstehung, von der stabilisierend wirkenden Gummilösung kolloidal gelöst wurde.

Trotzdem war es bei unseren Versuchen nie möglich, durch die ultramikroskopische Untersuchung des mit dem Eisen behandelten Serums die Vermutung einer kolloidalen Lösung zu bestätigen. Als sehr selten oder ganz und gar abwesend erwiesen sich die kolloidalen Teilchen bei der ultramikroskopischen Untersuchung, und fast immer waren sie unbeweglich, weshalb

[1]) Mengarini-Traube, Atti R. Accad. Lincei **1910**.

[2]) Lewis und Waumsley, Journ. Soc. Chem. Ind. **31**, 1912.

weder von kolloidalem Eisen noch von kolloidalem Eisenhydroxyd die Rede sein kann, wenn man nicht auf das Vorhandensein eines amikronischen Kolloids schließen will.

Wenn man ausschließt, daß hier solche physikalischen Erscheinungen in Betracht kommen, könnte man weiter denken, daß das Eisen von dem Serum chemisch gebunden wird, und zwar daß dies durch die in ihm enthaltenen Gase geschieht. Daß das metallische Eisen von den Luftgasen und besonders von der Kohlensäure sehr leicht angegriffen wird, kann man durch folgende Versuche leicht nachweisen.

a) Ein etwa 30 ccm fassendes Rohr wird mit Leitfähigkeitswasser, das durch Kochen in einem Jena-Becher von der von ihm eventuell fixierten Luft befreit wird, gefüllt, dann werden 2 g feinstes Eisenpulver dem Wasser zugesetzt und das Ganze bei gefülltem Rohr 2 Stunden lang geschüttelt, also unter Abschluß von Luftblasen. Nachdem die Flüssigkeit einige Minuten stehen geblieben ist, wird sie zentrifugiert und vom Absatz getrennt; man kann keine Spur Eisen nachweisen.

b) Ein zweites Rohr wird mit Leitfähigkeitswasser, das von Gasen durch Kochen befreit ist, dann mit einem Sauerstoffstrom einige Minuten lang behandelt, gefüllt und mit der gleichen Menge Eisenpulver gleiche Zeit lang geschüttelt. Bei der Analyse ist es sehr zweifelhaft, ob Eisenspuren nachzuweisen sind.

c) Ein drittes mit gewöhnlichem, durch Chlorid- und Sulfatspuren verunreinigtem destilliertem Wasser gefülltes Rohr wird mit derselben Eisenpulvermenge und gleich lange geschüttelt. Es sind hier Spuren gelösten Eisens deutlich nachzuweisen.

d) Ein viertes Rohr wird mit vorher gekochtem Leitfähigkeitswasser, in das ein Strom reiner Kohlensäure einige Augenblicke lang eingeleitet wurde, gefüllt. Mit Eisen geschüttelt, läßt es beträchtliche Menge fixierten Metalls nachweisen. Eine quantitativ, nach der Ripper und Schwarzerschen Methode ausgeführte Untersuchung ergab:

Fixiertes Eisen 0,028 %.

Aus diesen Versuchen dürfen wir wohl den Schluß ziehen, daß, wenn wir auch annehmen können, daß das Fe-Ion mit den OH-Ionen des Wassers reagiert und ein Hydrat ergibt, es unzweifelhaft bleibt, daß diese Erscheinung in unserem Falle von untergeordneter Bedeutung ist, indem bei der Analyse keine Spur Eisen nachzuweisen ist.

Ganz anders liegt aber die Sache, wenn die HCO_3-Ionen der Kohlensäure vorhanden sind, in welchem Falle sich ein Ferrocarbonat, wie aus den charakteristischen Merkmalen der Lösung zu ersehen ist, gebildet hat. Die im Rohr *d* enthaltene

Flüssigkeit ist in der Tat ganz farblos und durchsichtig; wenn wir aber das Rohr öffnen, so bildet sich sofort an der Oberfläche, wo sie mit der Luft in Berührung gekommen ist, eine Trübung und die Lösung färbt sich grün. Die Reaktion geht langsam von oben nach unten, bis sich an den Wandungen des Rohres ein grüner und dann ziegelsteinroter Niederschlag, der aus Eisenhydroxyd besteht, gebildet und am Boden gesammelt hat. Durch einen Zusatz von H_2O_2 wird die Bildung des Niederschlages beschleunigt; durch Zusatz eines Kolloids, z. B. Gummi, wird die rote Färbung der Flüssigkeit an der Oberfläche nicht verhindert, aber sie geht viel langsamer vonstatten, ohne zu einem wirklichen Niederschlag zu führen, was dadurch zu erklären ist, daß das sich allmählich bildende Eisenoxydhydrat etwa absorbiert oder von dem Kolloid in löslicher Form irgendwie fixiert wird.

Dasselbe Ergebnis wird erhalten, wenn anstatt des Eisens metallisches Kobalt mit Leitfähigkeitswasser geschüttelt wird. Das mit CO_2 versetzte Leitfähigkeitswasser löst nämlich beträchtliche Mengen Kobalt, indem es eine mehr oder weniger ausgeprägte Rosafärbung annimmt. Wenn wir nun anstatt des Wassers, in dem sich die Kohlensäure physikalisch gelöst befindet, Eisen, Kobalt und mehrere andere Metalle mit verdünnten Lösungen von leicht dissoziierbaren Alkalicarbonaten schütteln, so gelangen wir zu demselben Ergebnis.

Wenn auch die Kohlensäure, bzw. die Alkalicarbonate des Serums, sich in ganz anderer Form wie bei einer einfachen wässerigen Lösung befinden können, so ist jedoch anzunehmen, daß mindestens ein Teil des Eisens mit dieser Kohlensäure, bzw. Serumcarbonaten in der angegebenen Weise reagiert. In der Tat, wenn wir die ausgeführten Versuche zur Bestimmung der Verdünnung der Serum-H-Ionen und der Dissoziationszahl der Kohlensäure des Blutes in Betracht ziehen, so werden wir daraus ersehen, daß 8,2% Teile der Gesamtkohlensäure ungebunden, also physikalisch gelöst bleiben, indem 91,8% mit den Mineralalkalien in Form von Bicarbonaten gebunden sind, wovon 73,4% in Form von Bicarbonat-Ion HCO_3'' und 18,4% in Form von undissoziiertem Bicarbonat.

Nun ist die Gegenwart solcher löslichen und leicht diffundierenden Alkalicarbonate für die Verbindung der Protein-

substanzen mit den Schwermetallsalzen von großer Bedeutung, wie sich aus den neueren Versuchen von Heard[1]) ergibt.

Er hat festgestellt, daß die Fällung der Proteinsubstanzen durch diese Metallsalze als eine Reaktion zwischen Metallsalzen und löslichem Alkalicarbonat aufzufassen ist, so daß, wenn die Proteinsubstanz durch Dialysieren von ihren diffundierenden Alkalicarbonaten befreit wird, die Fällung durch die Metallsalze nicht mehr stattfindet.

Es war deshalb von Interesse, die Bindungsverhältnisse des Eisens mit dem Serum, das durch anhaltendes Dialysieren von seinen diffundierenden Salzen befreit worden war, zu bestimmen, sowie die Bindungsverhältnisse des von Gas durch Auspumpen befreitem Serums zu bestimmen, da es aus Pflügers Forschungen bekannt ist, daß die Dissoziation der Kohlensäure im Serum eine vollständigere als in einer Carbonatlösung ist, und daß dieselbe so lange vor sich geht, bis alles Bicarbonat in beständiges, im Vakuum undissoziiertes Carbonat übergegangen ist. Daraus wurde auf die Gegenwart von sauren Substanzen im Serum (Jacquets subacide Substanzen) geschlossen, auf die die vollständige Dissoziation zurückzuführen sein würde.

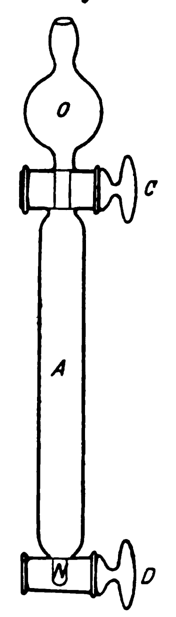


Fig. 1.

Der bei unseren Versuchen benutzte Apparat (siehe Fig. 1) besteht im wesentlichen aus einem Rohr *A*, dessen Enden mit zwei luftdicht schließenden Glashähnen *C* und *D* versehen sind. Der Hahn *D* ist mit einer Vertiefung *N* versehen, die eine gewogene Menge Eisenpulver, das mit dem Serum geschüttelt werden soll, enthält. Wenn der Hahn sich in der in der Fig. 1 dargestellten Stellung befindet, wird der Apparat mit einer Quecksilber-Vakuumpumpe verbunden und das Vakuum bis 760 mm erzeugt. Sämtliche im Eisenpulver in der Vertiefung *N* enthaltene Luft wird in dieser Weise ausgetrieben. Nun wird der Hahn *D* gedreht und der Apparat von der Pumpe entfernt. Dann wird das Rohr *A* etwa bis zur Hälfte der Kugel *O* mit dem Serum gefüllt und der Apparat nochmals mit der Pumpe verbunden und das Vakuum von neuem erzeugt.

Nachdem alle Gase aus dem Serum vollständig ausgetrieben worden sind, wird der Hahn *S* geschlossen, der Hahn *D* gedreht und das Rohr umgekehrt, so daß das in der Vertiefung *N* enthaltene Eisen mit

[1]) Heard, Journ. of Physiol. 46, 104.

dem Serum in Berührung gebracht wird. Bei zwei Versuchen mit normalem Serum und mit solchem, das vorher von seinen Gasen befreit worden war, bei gleichen Mengen Serum und bei gleicher Schütteldauer, ergaben sich folgende Resultate:

Vom normalen Serum gebundenes Eisen 0,016%,
„ bei 760 mm gasbefreiten Serum gebundenes Eisen 0,014%.

Diesen Zahlen, ebenso wie den weiter unten angegebenen, ist naturgemäß kein absoluter, sondern nur ein vergleichender Wert zuzuschreiben. Angenommen werden darf wohl, daß die Schütteldauer, die Temperatur, die Qualität des Serums, die Verdünnung desselben einen großen Einfluß auf die fixierte Eisenmenge haben werden. Darüber sind in unserem Institut mehrere Versuche in Angriff genommen worden.

Aus obigen Analysenergebnissen (aus denen noch weitere ganz übereinstimmende Zahlen erhalten wurden, die wir der Kürze wegen hier nicht bringen wollen) ist zu ersehen, daß sich ein solches chemisches Gleichgewicht in dem Serum befindet, daß das Eisen, im Gegenteil wie es bei einer wässerigen Lösung der Fall ist, mit der Kohlensäure, bzw. mit den Alkalicarbonaten des Serums, nicht reagiert.

Ganz anders verhält sich aber die in das Serum eingeleitete Kohlensäure, wie aus folgenden Versuchen zu ersehen ist:

In zwei gleiche Rohre werden gleiche Mengen Serum (30 ccm) und Eisenpulver (1 g) gebracht. In das eine der beiden Rohre war vorher, etwa eine Minute lang, ein schwacher CO_2-Strom eingeleitet worden. Die Schütteldauer war bei den zwei Rohren dieselbe. Nachdem die beiden Lösungen filtriert und zentrifugiert wurden, wurden die erhaltenen klaren Flüssigkeiten untersucht.

Die Resultate waren folgende:

Vom normalen Serum gebundenes Eisen . . . 0,014%
„ mit Kohlensäure versetzten Serum gebundenes Eisen 0,026%

Wir dürfen also daraus den Schluß ziehen, daß die in dem Serum physikalisch gelöste Kohlensäure sich analog wie im Wasser dem Eisen gegenüber verhält. Trotzdem müssen wir nicht vergessen, daß der Vorgang in diesem Falle viel komplizierter verlaufen kann, als es im ersten Augenblicke den Anschein hat. In der Tat bedingt, wie bekannt, der Übergang der Kohlensäure in das Serum eine Vermehrung der diffundierenden Alkalien, die aus den vorhandenen nicht diffundierenden Alkalialbuminaten entstehen. Welcher Art nun der

Zustand und die auf das Eisen ausgeübte Wirkung dieser so entstandenen Alkalicarbonate ist, kann nur durch eine genaue Untersuchung festgestellt werden, und dabei muß die Oberflächenspannung der Kohlensäure, des Natriums sowie des diffundierenden Carbonat-Ions in Rechnung gezogen werden, sowie alle übrigen Umstände, die den Verlauf des Versuches verändernd beeinflussen können.

Hier sei noch bemerkt, daß dieselben Ergebnisse erhalten werden, wenn, anstatt des Serums, eine Eieralbuminlösung gebraucht wird. Letztere wurde in der Weise bereitet, daß man ein Eiweiß in 200 ccm Leitfähigkeitswasser, das vorher von den darin erhaltenen Gasen durch Kochen befreit und unter Vaselinöl während der Erkaltung aufbewahrt wurde, auflöste.

Wenn man immer unter Luftabschluß arbeitet und die klare Eieralbuminlösung mit Eisenpulver schüttelt, so merkt man, daß eine recht beträchtliche Menge des Metalls zurückgehalten wird, gleich ob das Albumin mit der Pumpe von der in ihm gelösten bzw. der dissoziierten Kohlensäure befreit worden ist oder nicht. Die Resultate der beiden Versuche, die wir hier bringen, um ein vergleichendes Urteil zu gestatten, beziehen sich auf eine und dieselbe Albuminlösung, die gleich lange und mit derselben Eisenmenge, bei gefülltem Rohre, geschüttelt wurde.

Albuminlösung — mit Wasser durch Kochen von seinen Gasen befreit (26 ccm)

zurückgehaltenes Eisen . . . . . 0,002 %.

Dieselbe Albuminlösung (27 ccm), in die vorher Kohlensäure eingeleitet wurde

zurückgehaltenes Eisen . . . . . 0,007 %.

Ein weiterer, unter denselben Bedingungen ausgeführter Versuch, aber mit einer konzentrierteren und mit dem Eisen länger geschüttelten Eieralbuminlösung, ergab folgende Resultate:

Albumin — normal, bei gefülltem Rohre geschüttelt

zurückgehaltenes Eisen . . . . . 0,018 %.

Albumin — von seinen Gasen bei 760 mm befreit und gleich lange mit der gleichen Menge Metall geschüttelt

zurückgehaltenes Eisen . . . . . 0,016 %.

An einen weiteren Umstand wollen wir hier erinnern, und zwar den, daß nicht nur das Eisen in dieser Weise vom Serum, bzw. vom Eieralbumin fixiert werden kann, sondern

auch mehrere andere Metalle, und nicht nur im Zustand von höchst feinem Pulver, sondern auch aus größeren Metallstücken, können in nicht unbedeutenden Mengen von den genannten Kolloiden gebunden werden.

Eine ähnliche Erscheinung wurde bereits von Schadee von der Does[1]) für das Silber beobachtet; wir beobachteten, daß ebenso Kupfer, Blei, Nickel, Aluminium und selbst Kobalt, das, wie bekannt, von den Säuren sehr schwer angegriffen wird, vom Serum und vom Eieralbumin fixiert werden.

Der Unterschied zwischen Metall und Metall, von diesem Gesichtspunkt aus, das Verhalten von zwei oder mehreren mit dem Serum bzw. mit dem Eieralbumin in Berührung gebrachten Metallen, der Einfluß der Konzentration der Albuminlösung, die Sättigungsgrenze und andere ähnliche Fragen wurden von Dr. Rocci näher studiert und sollen bald mitgeteilt werden, ebenso wie die quantitativen Ergebnisse von Versuchen, die mit dyalysiertem und salzfrei gemachtem Albumin (nach Pauli) ausgeführt worden sind.

Indem naturgemäß das metallische, in Wasser in Gegenwart von Kohlensäure gelöste Eisen alle charakteristischen Reaktionen gibt, so wird das von dem Serum bzw. vom Eieralbumin zurückgehaltene Eisen, um einen Ausdruck Macallums zu gebrauchen, teilweise maskiert. Wenn wir diese Flüssigkeiten mit Schwefelwasserstoffgas versetzen, so merkt man anfangs keine Reaktion; nach einer gewissen Zeit aber tritt die Reaktion auf, bis die Flüssigkeit, durch Entstehen von Eisensulfid, braun gefärbt wird. Diese Massenreaktion des Reagens kann bewiesen werden, wenn man anstatt des Schwefelwasserstoffs das Schwefelammonium benützt.

Die charakteristischen Reaktionen des Eisens mit dem Ferri- und Ferrocyankalium bleiben bei dem Ferro-Serum, bzw. bei dem Ferro-Albumin, vollständig aus.

Über die magnetischen Eigenschaften der durch die Proteinkörper gebundenen Metalle, dem Ausgangspunkt dieser Forschungen, können wir vorläufig nichts Genaues sagen; trotzdem geben wir hier die analytischen Ergebnisse eines Versuchs, aus denen zu ersehen ist, daß dieselben, mindestens zum Teil, scheinbar unverändert bleiben.

---

[1]) Schadee von der Does, Zeitschr. f. physiol. Chem. 24, 351, 1897.

2 g an der Luft getrocknetes und fein gepulvertes Eieralbumin werden in 30 ccm destilliertem Wasser gelöst. Die Auflösung ist eine fast vollständige, und die filtrierte und zentrifugierte Flüssigkeit sieht ganz klar aus. Diese Flüssigkeit wird in zwei gleiche Teile geteilt, dessen einer mit Kobaltpulver 10 Stunden lang geschüttelt wird. Die so behandelte Lösung hat eine deutliche braungelbliche Färbung angenommen.

Die magnetische Suszeptibilität der beiden Flüssigkeiten war folgende:

Normales Albumin . . . . . —526.10⁶

Kobalt-Albumin . . . . . . —450.10⁶

Hier wollen wir uns aber daran erinnern, daß, wenn man eine Albuminlösung längere Zeit schüttelt, ein Teil derselben, wenn auch ein sehr geringer, niedergeschlagen wird, so daß das spez. Gewicht der Lösung eine nicht unbedeutende Veränderung erfahren muß. Wir wollten deshalb bei den weiteren Versuchen die magnetischen Eigenschaften des mit Metallen geschüttelten Albumins mit denjenigen desselben Albumins, das gleich lange, aber in Gegenwart von Quarzpulver geschüttelt war, vergleichen, und über die zahlreichen mit dem Eisen und mit vielen anderen Metalle ausgeführten Versuche soll in einer nächsten Arbeit berichtet werden.

Es drängt sich nunmehr die Frage auf, auf welche Weise die feingepulverten, mit Serum bzw. mit Albuminlösungen geschüttelten Metalle von denselben zurückgehalten werden.

Ausgeschlossen ist, wie schon gesagt, daß es sich um einen Suspensionsvorgang oder um einen Übergang des Metalls in den kolloidalen Zustand handelt; nachdem bewiesen wurde, daß das Serum und das Eiweiß, auch im Vakuum, die Eigenschaft, Metalle zu fixieren, aufweisen, könnte man an die Wirkung anderer im Serum bzw. Albumin vorhandenen Anionen und besonders an das Cl-Ion denken. Da sich aber aus den von Dr. Rocci unternommenen und schon erwähnten Untersuchungen ergeben hat, daß auch die längere Zeit (7 oder 8 Tage) dialysierten Proteinsubstanzen die Eigenart, Metalle zu fixieren, aufweisen, augenscheinlich in gleichem Maße wie die nicht dialysierten, so ist die Wirkung dieser Anionen als sehr unwahrscheinlich anzusehen.

Müssen wir nun die Annahme einer einfachen Auflösung der betreffenden Metalle im Serum, bzw. im Eieralbumin, machen, ähnlich wie sie sich, unter bestimmten Umständen, in Wasser und in schwachen Säuren auflösen können? Beutel hat z. B. festgestellt, daß fein verteiltes Gold sich leicht in einer Ferricyankaliumlösung auflöst.

Oder wird man nicht eher annehmen, daß durch das Schütteln aus den kleinen Metallteilchen sich Ionen lösen (wie sich z. B. das in einem fein verteilten Strahl verspritzte Quecksilber leicht ionisieren läßt), und daß diese Ionen dann nach und nach von den kolloidalen Teilchen der Proteinsubstanz, mit denen sie in Berührung kommen, absorbiert werden und letztere sich an ihrer Oberfläche mit einer mehr oder weniger großen Menge Ionen beladen, so daß eine wirkliche Adsorption von Fe-Ionen stattfindet?

Oder wird sich nicht die Annahme einer wirklichen chemischen Reaktion zwischen Metall und Proteinsubstanz ergeben, so daß ersteres wirklich in das Albuminmolekül eintritt, das in diesem Falle als eine schwache Säure metallbindend wirken würde?

Zu diesem Zwecke wurden, wie schon gesagt, mehrere Untersuchungen mit Serum und Eiweißlösungen, die, durch anhaltendes Dialysieren nach der Paulischen Methode, von Salzen sorgfältig befreit worden waren, in Angriff genommen, und bei diesen elektrisch neutral oder amorph gemachten Lösungen haben wir noch weiter die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Kolloids vor und nach der Fixierung des Metalls untersucht. Aber diese Untersuchungen sind noch nicht beendet.

Beiträge zum Chemismus der Jodwirkung.

Von

Leo Adler und Ludwig Czapski.

(Aus der II. inneren Abteilung und dem physiologischen Laboratorium des Krankenhauses im Friedrichshain-Berlin.)

(Eingegangen am 23. Mai 1914.)

Die Wirkungsweise des Jodkali im Organismus ist trotz einer großen Anzahl von Studien, die sich mit verschiedenen diesbezüglichen Fragen befassen, noch völlig unklar. Vor allem ist über die Möglichkeit des Freiwerdens von Jod im Körper nach dem Gebrauch von Jodkalium viel gestritten worden. Ein Beweis für eine derartige Umsetzung fehlt bisher. Freilich ist er sowohl nach der negativen wie nach der positiven Seite schwer zu liefern.

Vor kurzem konnte nun der eine von uns (A.[1]) zeigen, daß Jodjodkali und Jodkali in einer Beziehung absolut verschieden wirken. Nach subcutaner Injektion von Jodjodkali-Lösungen zeigen die Hoden der Versuchstiere stets eine streng charakteristische Schädigung, die bei geeigneter Dosierung zur völligen Zerstörung des Parenchyms führt. Durch Jodkali-Injektion konnten derartige Schädigungen nie erzeugt werden.

Wir glaubten, diese Wirkungsdifferenzen von vornherein nicht auf quantitative Verhältnisse zurückführen zu dürfen, sondern hielten qualitative Unterschiede für maßgebend. Wir sagten uns: Entweder entstehen nach Jodjodkali-Injektion im Organismus Verbindungen, die, von außen an den Hoden herantretend, diesen zerstören, oder es kommt die Wirkung dadurch zustande, daß durch die Umsetzung des Jods in den Hodenzellen diese infolge ihrer besonderen Empfindlichkeit geschädigt und zerstört werden. Diese hypothetischen Verbin-

[1]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 75, 1914.

dungen oder Umsetzungen sind aber nicht vorhanden bei Jodkalimedikation.

Wenn wir auch quantitative Unterschiede bei den Jodwirkungen nicht für wahrscheinlich ansahen, so mußten wir sie doch erst durch Versuche ausschließen. Wir prüften zuerst die quantitativen Verhältnisse.

Quantitative Untersuchungen.

Zunächst wurden quantitative Jodbestimmungen in den Hoden von Kaninchen gemacht, denen subcutan 1 bis 4 mal in Abständen von 24 Stunden Jodkali und Jodjodkali-Lösungen eingespritzt worden waren. 7 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere in dieser Serie kastriert.

In Anlehnung an die früheren Versuche zur Zerstörung der Hoden wählten wir die Konzentration so, daß ein Kaninchen von 3000 g pro Injektion 5 ccm der Jodjodkali-Lösung (a) bekam, von der Jodkalium-Lösung (b) entsprechend ihrer halben Konzentration an Jod (J′) pro Injektion 10 ccm.

Die Lösungen waren wie folgt zusammengesetzt:

Lösung a.

Jod. pur.	2,0	} 5,08 Jod
Kal. jodat.	4,0 (= 3,08 Jod)	
Aq. dest. ad	100,0	

5 ccm = 0,254 Gesamt-Jod mit 1,0 Jod. pur.

Lösung b.

Kal. jod.	3,31 (= 2,54 Jod)
Aq. dest. ad	100,0

10 ccm = 0,254 Gesamt-Jod

Die Hoden wurden zusammen frisch sofort nach der Entnahme gewogen, möglichst fein geschnitten und quantitativ in einer Schale auf dem Wasserbad getrocknet. Dann wurden sie mit einem Mörser verrieben, im Trockenschrank bei 108° getrocknet und auf Gewichtskonstanz gewogen. Danach wurden sie mit ca. 40 ccm Äther extrahiert. Der Rückstand wurde nach Abdunsten der Ätherspuren im Nickeltiegel mit der 15 fachen Menge gepulverten Natriumhydrat e Natrio[1]) (Merck) geschmolzen.

[1]) Die völlige Jodfreiheit der Reagenzien wurde durch blinde Versuche festgestellt.

Wenn keine brennbaren Gase mehr aufstiegen, wurde die Substanz mit 1 bis $1^1/_2$ g fein gepulverten Kalisalpeters (Merck) völlig verbrannt. Nach dem Abkühlen wurde die Schmelze in heißem Wasser gelöst, in einen graduierten, 100 ccm fassenden Meßzylinder filtriert und auf ca. 35 ccm gebracht. Die klare, erkaltete Flüssigkeit wurde mit 20% Schwefelsäure versetzt und das freiwerdende Jod mit zunächst 10 ccm Schwefelkohlenstoff ausgeschüttelt. In einen, dem ersten völlig gleichen Zylinder wurden nach Baumanns Vorschrift 25 ccm Wasser, 10 ccm konz. Natriumsulfat-Lösung und 5 oder 10 ccm einer öfter eingestellten Jodkali-Lösung mit der Pipette gebracht. (Die Standard-Lösung enthielt in 5 ccm 1 mg JK = 0,77 mg Jod.) Es wurde in beide Zylinder so viel Schwefelkohlenstoff hinzugefügt, bis nach dem Ansäuern der Testlösung mit Schwefelsäure und Versetzen mit einigen Tropfen 2%iger Natriumnitrit-Lösung die Färbung in beiden Zylindern gegen weißes Glanzpapier gleich war. Diese colorimetrische Bestimmung wurde nach Oswalds Vorschlag durch die titrimetrische Methode nach Fresenius ergänzt: Der mit Wasser im Schütteltrichter oder auf dem Filter säurefrei gewaschene Schwefelkohlenstoff wurde mit $^n/_{100}$-Thiosulfat-Lösung auf Entfärbung titriert. Die colorimetrischen und titrimetrischen Werte stimmten gut überein.

Die Ätherextrakte wurden nach Abdunsten des Äthers nach der gleichen Methode verascht. Sie waren in allen Fällen jodfrei. Es war also in den Hoden niemals Jod in ätherlöslicher Form vorhanden.

Aus Tabelle I geht hervor, daß die absoluten Jodmengen im Hoden am 1. und 2. Tage größer sind als am 4. (die Kastration erfolgte 7 Stunden nach der letzten Injektion!). Trotz täglich wiederholter Zufuhr ist nicht nur keine Jodzunahme, sondern eine Jodabnahme eingetreten, eine Speicherung hat also nicht stattgefunden. In bezug auf die eingeführte Menge ist eine Speicherung auch dann nicht nachzuweisen, wenn die Zeit zwischen letzter Injektion und Kastration von 7 auf 2 Stunden reduziert wurde (Versuch 78 bis 81): bei Annahme gleichmäßiger Verteilung des Jods im Körper entfielen hier auf die 8 Hoden 10,6 mg, während sie 3,3 mg = 31% zurückhielten.

Jodjodkali.

Tabelle I.

Nr.	Gewicht	Anzahl d. Inj.	Das Tier erhielt JK g	Das Tier erhielt Gesamt-J g	Das Tier erhielt freies J g	Hoden Jodgeh. mg	Hoden Gewicht feucht g	Hoden Gewicht trocken g	Bei Annahme gleichm. Verteilg. d. Jods im Körper hielten d. Hoden zurück: Jod i. % d. Zuf.	Kastr. Stdn. nach d. letzten Injekt.
64	3000	1	0,2	0,28	0,10	0,18	7,5	2,61	29	7
53	2810	2	0,37	0,48	0,19	0,35	9,6	1,29	21	7
54	2430	2	0,32	0,41	0,16	0,24	7,5	1,71	19	7
78, 79 80, 81	3550, 2400, 3500, 2050 = 11500	3	2,35	3,08	1,27	3,3	39,4	—	31	2
57	2250	4	0,60	0,76	0,30	0,07	5,9	1,64	3,5	7
58	2330	4	0,62	0,79	0,31	0,10	5,6	1,46	5,3	7

Jodkali-Versuche.

Tabelle II.

Nr.	Gewicht	Anzahl d. Inj.	Das Tier erhielt JK g	Das Tier erhielt J g	Hoden Jodgeh. mg	Hoden Gewicht feucht g	Hoden Gewicht trocken g	Bei Annahme gleichm. Verteilg. d. Jods im Körper hielten d. Hoden zurück: Jod i. % d. Zuf.	Kastr. Stdn. nach d. letzten Injekt.
51	3000	2	0,66	0,51	0	7,0	0,87	0	7
52	2660	2	0,58	0,45	0	8,4	1,52	0	7
71 + 72	7700	je 3	7,56	5,82	4,1	31,5	—	17	3
55	2800	4	1,23	0,95	0	8,9	3,00	0	7
56	2500	4	1,17	0,90	0	8,5	1,05	0	7

Tabelle II zeigt, daß nach Injektion entsprechender Jodmengen in Form von Jodkali-Lösungen die Hoden **jodfrei** sind. Damit ist nicht gesagt, daß den Hoden überhaupt die Fähigkeit fehlt, nach subcutaner Jodkali-Injektion Jod festzuhalten.

Dies zeigten Versuch 71 und 72: 2 Kaninchen im Gewicht von (3900 + 3800 g) = 7700 g erhielten in 3 aufeinanderfolgenden Tagen im ganzen 7,56 g JK = 5,82 g J subcutan; 3 Stunden nach der letzten Injektion wurden sie getötet. Die Hoden wogen frisch (15,0 + 16,5) = 31,5 g; sie enthielten 4,08 mg Jod. Nimmt man eine primär gleichmäßige Verteilung des Jods im

Organismus an, so entfielen auf die Hoden $\frac{5,82 \cdot 31,5}{7700}$ g = 23,8 mg Jod. Mithin hatten die Hoden 17 % des auf sie entfallenden Jods retiniert.

Auch aus einem Versuch von Loeb[1]) geht hervor, daß der Hoden nach JK-Injektion Jod retinieren kann; eine besondere Fähigkeit hierzu kommt ihm aber nicht zu. Vielmehr wird er nach den Angaben dieses Autors von fast allen anderen Organen in bezug auf Jodspeicherung übertroffen.

Immerhin lehrt Versuch 71 und 72, daß man durch sehr große JK-Mengen im Hoden so große Mengen Jod zur Retention bringen kann, daß sie die nach Injektion Lugolscher Lösung retinierten bei weitem übertreffen. Auf zweierlei Art gelang es, den Beweis zu erbringen, daß es keine quantitativen Unterschiede zwischen Jodkali und Jodjodkali sein können, die das verschiedene Verhalten der Hoden nach Zufuhr beider Jodverbindungen erklären: Bei Injektion kleiner Jodkalimengen (s. oben Tabelle II) ist das Fehlen des Jods im Hoden zweifellos eine Folge der schnellen Ausscheidung. Diese schnelle Elimination konnte aufgehoben werden durch häufigere, täglich oftmalige Injektion von Jodkali. Und dennoch zeigte der Hoden nichts von den Veränderungen, die nach entsprechenden Mengen von Jodjodkali so prompt auftraten. Weiterhin aber zeigten die Tiere, die mit Jodkali zu Tode gespritzt wurden und die noch viel höhere Dosen erhielten als die Versuchstiere Nr. 71 und 72, in keiner Weise Jodschädigungen am Hoden.

Damit ist erwiesen, daß quantitative Differenzen an der Verschiedenartigkeit der Wirkung von Jodkali- und Jodjodkali-Lösungen nicht in Betracht kommen.

Qualitative Untersuchungen.

Die folgenden Versuche sollten Aufschluß geben über die Bindungsart des Jods nach Injektion der beiden Lösungen. Neben den Organen und dem Blut wurde noch die Ausscheidungsform des Jods im Harn untersucht. Bezüglich der Methodik dieser Untersuchungen war es unser Bestreben, die Organextrakte möglichst schonend zu behandeln; nur so konnten

---

[1]) Loeb, Die Jodverteilung nach Einfuhr verschiedener Jodverbindungen. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 56, 325.

wir mit Sicherheit ausschließen, daß uns eine etwa sehr labile Bindungsform des Jods entging.

Versuche mit Jodkali-Lösung.

In Versuchen 71 und 72 wurden nur die Hoden, in Versuch 73 Hoden, Blut, Leber, Muskel, Urin untersucht. Obwohl der erste Versuch, wie sich später herausstellte, zu falschen Folgerungen führte, teilen wir ihn mit, weil wir durch ihn veranlaßt wurden, unsere Methodik zu ändern und weil er auf das bisher nicht beschriebene Vorkommen einer jodbindenden Substanz (oder Substanzen) in eiweißfreien Organextrakten hinweist.

Versuch 71 und 72.

Nr.	Gewicht g	Datum	Injiziert ccm JK $\frac{3,31}{100}$	= g J	Gewicht der Hoden g
71	3900	26. II. 1914 10^{30}	39	0,99	
		27. II. — —	39	0,99	
		28. II. — 10^{15}	39	0,99	
		kastriert 1^{15}		2,97	15
72	3800	26. II. 1914 10^{30}	38	0,95	
		27. II. — —	38	0,95	
		28. II. — 10^{30}	38	0,95	
		kastriert 1^{30}		2,85	16,5

Untersuchung 3 Stunden nach der letzten Injektion.

Die Hoden wurden gemeinsam verarbeitet. Durch den Zerkleinerungsapparat nach Latapie wurden sie in einen zähflüssigen Brei verwandelt, wobei nur die Hüllen zurückblieben. Diese wurden im Mörser zerrieben und dem übrigen zugefügt. Dann wurde der Brei mit den Hüllen in 500 ccm 0,9%iger Kochsalz-Lösung aufgenommen und tüchtig verrieben, 24 Stunden im Eisschrank sich selbst überlassen. Der Extrakt wurde durch Seidenfilter filtriert. Das Filtrat sah schmutziggrau aus. Das Eiweiß wurde durch Aufkochen mit verdünnter Essigsäure und Ausschütteln in der Kälte mit kolloidalem Eisenhydroxyd (nach Michaelis und Rona) entfernt. Filtrieren am nächsten Tage; das Filtrat gab weder beim Kochen und Sättigung mit Amonsulfat, noch mit Sulfosalicylsäure eine Trübung. Das Eiweiß gab nach der Schmelze keine Jodreaktion.

Das eiweißfreie Filtrat wurde mitsamt dem schwach essigsauren Waschwasser eingeengt, filtriert und auf 100 ccm gebracht.

a) 50 ccm wurden auf anorganisches Jod untersucht: Versetzen mit verdünnter H_2SO_4, Ausschütteln mit CS_2 (keine Rosafärbung, also kein Jodat[1]); dann Hinzufügen einiger Tropfen 2%iger Natriumnitritlösung-Jod +. Das Jod wird colorimetrisch und titrimetrisch bestimmt.

b) 50 ccm wurden im Nickeltiegel eingedampft und wie oben beschrieben nach Schmelzen usw. auf Gesamt-Jod untersucht.

Dies waren die Jodwerte:

	Jod colorim. mg	Jod titrim. mg	Mittel	also im ganzen Hoden
a)	1,54	1,27	**1,41**	2,82 mg sofort nachweisbar. Jod
b)	2,17	1,91	**2,04**	4,08 mg Gesamt-Jod.

Hieraus folgerten wir, daß im Hoden kein Jod in Eiweißbindung war, und daß von den 4,08 mg Jod 2,82 in Jodidform und der Rest 4,08 — 2,82 = 1,26 mg = 31% in organischer Bindung waren. Diese Folgerung erwies sich als irrig. Denn wie der folgende Versuch lehrt, ist man unter gleichen Bedingungen imstande, mit Ag-Acetat das gesamte Jod aus dem Hodenextrakt zu fällen. Das organische Jod wurde nur vorgetäuscht dadurch, daß bei dem Freimachen des Jods in a) ein Teil in statu nascendi durch eine Substanz (oder Substanzen) bei schwefelsaurer Reaktion gebunden wird und so dem Nachweis entgeht. Durch Schmelzen des eingeengten Organextraktes (in b) wird die betreffende Substanz zerstört, und dann kommt auch das vorher verdeckte Jod zum Vorschein.

In Versuch 73 wurde neben den Hoden Blut, Leber, Muskel und Harn auf die Form der Jodbindung untersucht. Das Tier wurde 3 Stunden nach der letzten Injektion aus der Carotis entblutet.

Kaninchen 73.

Datum 1914	Gewicht	Injiziert ccm JK $\frac{3,31}{100}$	= g J	Gewicht der untersuchten Organe
5. III. 10^h vorm.	3700	37	0,96	Leber 131 g
6. III. 10^h „		37	0,96	Muskel 487 g
7. III. 10^h „		37	0,96	Blut 209 g
			2,88	Harn 250 ccm

[1]) Wäre Jodat vorhanden gewesen, so hätte es jetzt frei werden müssen entsprechend der Gleichung $HJO_3 + 5\,HJ = 3\,H_2O + 6\,J$.

Die Hoden wurden folgendermaßen untersucht: Verreiben usw. wie beim vorigen Versuch, desgleichen Enteiweißung. Der gewaschene Eiweißrückstand war jodfrei (Schmelze). Das wasserklare Filtrat wird zur Halogenfällung unter Erwärmen mit überschüssigem Ag-Acetat versetzt. Die Vollständigkeit der Fällung wird am nächsten Tage im Filtrat durch den Nachweis von überschüssigem Silber (durch NaCl) erwiesen. Aus dem Filtrat wird das Ag-Acetat durch konzentrierte NaCl-Lösung gefällt. Filtrieren am nächsten Tage. Das eingeengte Filtrat wird im Nickeltiegel geschmolzen. Es war jodfrei.

Es war also im Hoden das Jod nur in anorganischer, mit Ag fällbarer Form.

In ähnlicher Weise wurden Leber, Muskel und Blut untersucht. Nur wurde die Enteiweißung den betreffenden Organen und ihren Mengen angepaßt: Die Muskel wurden nach dem Passieren der Fleischmaschine bei schwach essigsaurer Reaktion in der Hitze extrahiert, das Blut nach dem Defibrinieren auf das 4 fache verdünnt und dann mit Essigsäure in der Hitze gefällt. Vollständig wurde die Eiweißfällung erst beim Schütteln mit Eisenhydroxyd. Nirgends fand sich Jod in Eiweißbindung.

Die weitere Behandlung entsprach völlig der für die Hoden beschriebenen. Im Schlußfiltrat, d. h. nach Ausfällen des anorganischen $J'(+JO_3'?)$ durch Ag-Acetat, war nirgends Jod durch Schmelzen feststellbar. Es gilt also für das Blut, die Leber und die Muskeln dasselbe wie für die Hoden. Das Jod war in ihnen nur in anorganischer Form vorhanden.

Im Harn wurde das Jod mit Ag-Nitrat bei schwach salpetersaurer Reaktion gefällt, die Schwefelsäure im Filtrat durch Verdampfen und wiederholtes Auffüllen mit Wasser entfernt. Auch hier war, wie in den Organen, alles Jod durch Ag ausgefällt.

Es beweist dieser Versuch, daß nach Injektion von JK-Lösung das Jod im Körper nur in anorganischer Form vorhanden ist und im Harn nur in dieser Form ausgeschieden wird.

Wie liegen nun die Verhältnisse nach Injektion Lugolscher Lösung?

Versuche mit Jodjodkalilösung.

In den Versuchen 78 bis 81 wurden nur die Hoden, in den Versuchen 76 und 77 Hoden, Blut, Leber, Muskel und Harn untersucht.

Versuch 78 bis 81.

Nr.	Gewicht	Datum	Injiziert ccm	= g J	= g fr. J	Gewicht der Hoden
78	3550	30. III. 5^{00}	5,9	0,30	0,12	13,6
		31. III. 11^{15}	5,9	0,30	0,12	
		kastriert 1. IV. 11^{45}	5,9	0,30	0,12	
79	2400	30. III. 5^{00}	4,1	0,21	0,08	8,1
		31. III. 11^{15}	4,1	0,21	0,08	
		kastriert 1. IV. 12^{00}	4,1	0,21	0,08	
80	3500	31. III. 11^{15}	5,9	0,30	0,12	12,7
		1. IV. 10^{00}	5,9	0,30	0,12	
		2. IV. 11^{15}	5,9	0,30	0,12	
		kastriert 2. IV. 1^{45}				
81	2050	30. III. 11^{15}	3,5	0,18	0,07	5,0
		1. IV. 10^{00}	3,5	0,18	0,07	
		2. IV. 11^{45}	3,5	0,18	0,07	
		kastriert 2. IV. 1^{30}				

Die durch Kastration (2 und 3 Stunden nach der letzten Injektion!) gewonnenen Hoden wurden genau wie bei Versuch 73 verarbeitet. Der einzige Unterschied bestand darin, daß das bei der ersten Halogenfällung entstandene Halogensilber nach wiederholter Waschung mit schwach essigsaurem Wasser zur Feststellung des mit Ag-Acetat gefällten Jods auf Jod verarbeitet wurde.

Der getrocknete Filterrückstand wurde zum größten Teil vom Filter gekratzt und dann mit dem Filter in einer geräumigen Porzellanschale mit 10 ccm Wasser und der 15 fachen Menge Natriumhydrat e Natrio auf dem Wasserbad angerührt; das Wasser wurde abgedampft und dann der Schaleninhalt bis zur schwachen Rotglut geschmolzen. Die graue Schmelze wurde nach dem Erkalten wiederholt mit heißem Wasser aufgenommen, wobei sie sich teilweise löste. Das hellgrüne (kolloid. Ag!) Filtrat wurde eingeengt und allmählich beim Eindampfen mit 20 $^0/_0$ H_2SO_4 bis zur sauren Reaktion versetzt. Es schied sich dabei ein flockiger, gelber Niederschlag ab; die Lösung wurde farblos. Nun wurde in einem 100 ccm fassenden Schüttel-

zylinder filtriert, das Jod durch einige Tropfen $NaNO_2$-Lösung in Freiheit gesetzt und wie üblich bestimmt. Es fanden sich 3,25 mg (3,2 colorim., 3,3 titrim.); sie entsprachen dem Teil des im Hoden enthaltenen Jods, der mit Ag fällbar ist (J′, JO_3'). Jod in anderer Form fand sich nicht. Es war also in den von 4 Tieren 2 bis 3 Stunden nach der letzten Injektion gewonnenen Hoden das Jod nur in anorganischer Form.

In den Versuchen 74 bis 77 wurden Hoden, Blut, Leber, Muskel und Harn wie in Versuch 73 untersucht.

Versuch 74 bis 77.

Nr.	Gewicht	Datum	Injiziert ccm	= g J	= g fr. J	Gewicht d. unters. Organe: Hoden g	Blut g	Leber g	Muskel g	Harn ccm
74	3270	14. III. 1^{00} 15. 11^{30} 16. 12^{45} verblutet 3^{15}	5,5 5,5 5,5	0,28 0,28 0,28	0,17 0,17 0,17	14,1	120,1	25,4	440,0	238
75	3070	14. III. 1^{00} 15. 12^{30} 16. 12^{45} verblutet 3^{00}	5,1 5,1 5,1	0,26 0,26 0,26	0,16 0,16 0,16	13,0	108,6	90,9	447,5	
76	2950	14. III. 1^{00} 15. 12^{30} 16. 12^{45} verblutet 3^{15}	4,9 4,9 4,9	0,25 0,25 0,25	0,10 0,10 0,10	10,9	74,3	97,0	376,8	165
77	2850	14. III. 1^{00} 15. 12^{30} 16. 12^{45} verblutet 3^{25}	4,8 4,8 4,8	0,25 0,25 0,25	0,10 0,10 0,10	4,2	82,8	100,0	359,4	
zus.	12140					42,3	285,8	363,3	1623,7	403

Das Eiweiß aus sämtlichen Organen war jodfrei. In allen Organen war in der Halogenfällung mit Ag-Acetat Jod qualitativ nachweisbar. Dagegen wurde es in anderer als anorganischer Form nicht gefunden.

Im Mischharn wurde das Jod quantitativ nach Anten (Neubauer-Huppert, „Analyse des Harns“ II, 449, 1913) bestimmt. Es fanden sich 1,55 g = 37% der zugeführten Menge. Qualitativ war auch im Harn das Jod nur in anorganischer Form.

Die letzten Resultate sind sehr auffallend. Auch nach Injektion von Jodjodkalium findet sich also in den Organen sowohl wie im Blut und Harn Jod nur in anorganischer Ionenform! Ob neben J' auch JO_3' vorhanden war (beide werden mit Ag ausgefällt), können wir nicht sagen, da wir hier nicht auf JO_3 geprüft haben.

Wenn nun Jodkali- und Jodjodkalilösungen so verschieden wirken, so kann dies auf der Umsetzung des „molekularen" Jods in Ionenform beruhen. Bei der Leichtigkeit, mit der sich Eiweiß in vitro „jodieren" läßt, war es nicht ausgeschlossen, daß sich als Zwischenprodukt ein Jodeiweiß bildet. Ein solches hatte sich bei den bisherigen Versuchen nicht gefunden.

Da die Tiere erst 7 Stuuden nach der letzten Injektion getötet wurden, mußte mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß das etwaige Eiweißzwischenprodukt bereits zerfallen war. Wir untersuchten also kurze Zeit nach der Injektion.

Der folgende Versuch (82) wurde so angestellt, daß einem männlichen Kaninchen von 2800 g 2 ccm unserer Lugollösung ($= 0{,}04\ J_2 + 0{,}06\ J'$) in die Ohrvene gespritzt und das Tier nach 10 Minuten aus der Carotis verblutet wurde.

Ca. 200 ccm Blut wurden defibriniert, das Fibrin wiederholt gewaschen, bis es grauweiß aussah. Der fibrinfreie Rest wurde auf 2 l aufgefüllt und das Eiweiß in der Kälte in drei Fraktionen mit Ammonsulfat gefällt. Die Flüssigkeit wurde zu $50^0/_0$ gesättigt, am nächsten Tage filtriert, das Filtrat zu $80^0/_0$ gesättigt, am nächsten Tage filtriert; das Filtrat dieser Fällung wurde auf $100^0/_0$ Sättigung gebracht und ebenfalls am nächsten Tage filtriert. Die Rückstände wurden wiederholt mit der ihnen entsprechenden Ammonsulfatlösung gewaschen, dann in Wasser gelöst und nochmals mit Ammonsulfat gefällt. Die filtrierten Fällungen wurden dann in Wasser gelöst und mit der 4 fachen Menge Alkohol gefällt, am nächsten Tage abgenutscht und auf der Nutsche mit Alkohol und Äther gewaschen und getrocknet. Fraktion I sah schneeweiß (Globulin), Fraktion II hellrosa (Albumin und Hämoglobin), Fraktion III rot (Hämoglobin) aus[1]).

Das gesamte verriebene Fibrin sowie je 2 g der gepulver-

---

[1]) Bei Fraktion II und III also keine absolute Trennung!

ten anderen Körper wurden getrennt auf Jod untersucht; sie waren jodfrei.

Nach diesem einen Versuch ist natürlich die Möglichkeit, daß sich bei der Umsetzung des Jods Jodeiweiß als Zwischenstufe bildet, nicht ausgeschlossen. Es ist damit nur erwiesen, daß sich 10 Minuten nach der intravenösen Injektion von Jodjodkalilösung im Blut kein Jodeiweiß mehr oder noch nicht findet.

Aus den bisherigen Versuchen schließen wir, daß nach Jodjodkaliinjektion das „molekulare" Jod in anorganische Ionenform übergeht; ob dies nur J', nur JO_3' oder beide Formen sind, werden spätere Versuche lehren. Nach der angewandten Methodik, die auf eine Trennung dieser Formen verzichtete, läßt sich vorläufig keine Entscheidung in dieser Richtung treffen. Ferner schließen wir, daß sich eine beständige organische Bindungsform nicht bildet.

Die Schädigung der Hoden wird, soviel können wir schon jetzt sagen, durch Umsetzung des molekularen Jods in die Ionenform bedingt. Ob auch andere Zellgruppen hierbei geschädigt werden, ist der Gegenstand von Untersuchungen, die im Gange sind.

Durch abgetötete Hefe hervorgerufene Oxydationen und Reduktionen auf Kosten des Wassers.

Von

W. Palladin und E. Lowtschinowskaja.

(Aus dem botanischen Laboratorium des Kaiserl. Frauenpädagogischen Instituts in St. Petersburg.)

(Eingegangen am 24. Mai 1914.)

Schon John Rollo behauptete, daß die durch Pflanzen in sauerstofffreiem Medium ausgeschiedene Kohlensäure sich durch Oxydation auf Kosten des Wassers bilde:

„Nous avons vu, que l'acide carbonique se formoit, même en quantité assez considerable, sans la présence du gaz oxigène; ce qui peut venir de la décomposition de l'eau, dont l'oxigène s'unit au carbone de l'arge"[1]).

M. Traube haben wir umfangreiche Untersuchungen über Oxydationsprozesse auf Kosten des Wassers zu verdanken. Diese Arbeiten sind aber nicht gebührend gewürdigt worden. Erst in den letzten Jahren fing man an, die Teilnahme des Wassers an den in Organismen stattfindenden Oxydations- und Reduktionsprozessen eingehend zu untersuchen. Die wenig berücksichtigten Reduktionsprozesse in Pflanzen wurden durch die Arbeiten von Bach[2]) zum Gegenstande allgemeiner Aufmerksamkeit. Bach hat die Ansicht ausgesprochen, daß die Reduktionsprozesse auf Kosten des Wassers verlaufen und daß folglich der sich ausscheidende Sauerstoff beiläufig Oxydationsreaktionen hervorrufen kann. Von dem Grundsatze ausgehend,

[1]) J. Rollo, Annales de Chimie 25, 37, 1798. — Zu der erwähnten Ansicht fügt Guyton folgende unter der Zeile befindliche Bemerkung hinzu: „On pourroit être tenté d'objecter ici à M. Rollo, que Lavoisier, qui avait d'abord admit la décomposition de l'eau dans la fermentation, pour la production du gaz acide carbonique et pour fournir l'hydrogène à la liqueur spiritueuse, avait depuit abandonné cette hypothèse."

[2]) A. Bach, diese Zeitschr. **31**, 443; **33**, 282, 1911 u. folgende Bände.

daß während der alkoholischen Gärung eine Umlagerung des Sauerstoffs vom Wasserstoff zum Kohlenstoff stattfindet, hat einer von uns[1]) die Meinung ausgesprochen, daß solche Umlagerungen auch während der Atmung vonstatten gehen müßten; da aber in der Glucose zur Oxydation des gesamten in ihr befindlichen Kohlenstoffes nicht genügend Sauerstoff vorhanden ist, so folgt hieraus, daß der fehlende Sauerstoff dem Wasser entnommen wird. Der frei werdende Wasserstoff wird von den Wasserstoffacceptoren gebunden. Solche Wasserstoffacceptoren sind unter den Pflanzen sehr verbreitet und sind unter dem Namen Atmungspigmente[2]) bekannt. Die Atmungspigmente verwandeln sich unter Wasserstoffaufnahme in Leukoverbindungen, d. h. Chromogene. In demselben Jahre veröffentlichte Wieland[3]) seine interessanten Untersuchungen über Oxydation vermittels des Wassers in Gegenwart eines Katalysators. Aus Wielands Versuchen geht mit besonderer Anschaulichkeit hervor, daß zur energischen Oxydation auf Kosten des Wassers die Anwesenheit der Wasserstoffacceptoren notwendig ist. Der Ausdruck „Wasserstoffacceptor“ hat sich seit den Arbeiten Wielands in der Physiologie vollständig eingebürgert. Als Wasserstoffacceptor benutzte er hauptsächlich Methylenblau. Schon vor den Arbeiten Wielands findet man in den Arbeiten Bredigs schöne Beispiele der Bedeutung des Wasserstoffacceptors bei chemischen Reaktionen vor. Besonderes Interesse bietet folgender Versuch von Bredig und Sommer[4]) dar: sie haben gezeigt, daß Ameisensäure in Gegenwart des Katalysators und des Methylenblaus als Wasserstoffacceptor sich in Kohlensäure und Wasserstoff zersetzt; letzterer wird von Methylenblau (M) absorbiert: $HCO_2H + M = CO_2 + M.H_2$. Die Ausscheidung von Kohlensäure kann nur so lange fortdauern, als Methylenblau vorhanden ist. Nach Zusatz von Sauerstoff fängt von neuem die Ausscheidung der Kohlensäure an, denn die oxydierte Leukoverbindung gewinnt die Möglichkeit, von neuem Wasserstoff

[1]) W. Palladin, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. **1**, 91, 1912; diese Zeitschr. **60**, 171, 1914.

[2]) W. Palladin, Ber. d. Deutsch. botan. Ges. **26a**, 125, 378, 389, 1908; **27**, 101, 1909; Zeitschr. f. physiol. Chem. **55**, 207, 1908; diese Zeitschr. **18**, 151, 1909; **27**, 442, 1910.

[3]) H. Wieland, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **45**, 2606, 1912.

[4]) Bredig und Sommer, Zeitschr. f. physikal. Chem. **70**, 34, 1910.

abzuspalten. Einer von uns nimmt an, daß die ersten Stadien der anaeroben Atmung wie auch der alkoholischen Gärung vollständig identisch sind und in einer Reihe von Oxydations- und Reduktionsreaktionen auf Kosten des Wassers bestehen. Während der Atmung wird der frei bleibende Wasserstoff dem Wasserstoffacceptor übergeben und schließlich als Wasser entfernt. In Abwesenheit von Sauerstoff während der anaeroben Atmung wie auch während der alkoholischen Gärung wird dieser Wasserstoff schließlich zur Reduktion der primären Spaltungsprodukte der Glucose über Aldehyd bis zum Alkohol verwendet. Falls dem so ist, müßte man versuchen, die typische alkoholische Gärung durch Zusatz nicht nur von Sauerstoff sondern auch von Wasserstoffacceptor in die Atmung überzuführen. Es ist bekannt, daß alle Versuche einer Verwandlung der alkoholischen Gärung in Atmung durch Zugabe nur von Sauerstoff nicht gelingen; es ist notwendig, noch einen Wasserstoffacceptor hinzuzufügen. Von diesen Erwägungen ausgehend, werden unter der Leitung des einen von uns schon seit etlichen Jahren Versuche über die Einwirkung der Wasserstoffacceptoren auf die alkoholische Gärung getöteter Hefe angestellt. Es erwies sich, daß eine Zugabe von Wasserstoffacceptor in Form von Chromogen der weißen Rübe[1]) oder in Form von Methylenblau[2]) zur Saccharose am Anfange der alkoholischen Gärung dieselbe um so mehr hemmt, je mehr Wasserstoffacceptor hinzugesetzt worden ist. Vollständig gleichmäßig wird die Menge der sich ausscheidenden Kohlensäure wie auch die Menge des sich bildenden Alkohols zurückgedrängt. Hieraus folgt, daß der zum Anfangsstadium der alkoholischen Gärung beigefügte Wasserstoffacceptor schädlich ist; das Entfernen des Wasserstoffes zu Anfang der alkoholischen Gärung verhindert dieselbe. Dadurch erklärt sich nun, warum getötete Pflanzen, falls sie reich an Chromogen sind, an der Luft weniger Kohlensäure ausscheiden als dieselben Blätter, die sich vorher in einer Wasserstoffatmosphäre befanden und erst nach Aufhören der Kohlensäureausscheidung an die Luft gebracht wurden, wo sie von neuem anfangen, Kohlensäure auszuscheiden[3]). Infolge der regulierenden Tätigkeit des Proto-

[1]) W. Palladin und S. Lvoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 2, 238, 1913.

[2]) S. Lvoff, Zeitschr. f. Gärungsphysiol. 3, 289, 1913.

[3]) W. Palladin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 407, 1906.

plasmas in lebenden Pflanzen können die Atmungschromogene wahrscheinlich nur auf irgendwelche Zwischen- oder Endstadien der Glucosespaltung einwirken; die lebende Zelle trifft Maßregeln, daß das Atmungschromogen keine schädliche Wirkung auf die ersten anaeroben Stadien der Glucosespaltung ausübe. Nach dem Tode hört solche regulierende Tätigkeit auf, das Chromogen erscheint als Gift und hält den alkoholischen Gärungsprozeß auf. Auf Brenztraubensäure übt Methylenblau keinen Einfluß aus[1]).

Aus diesem Umstande kann man schließen, daß ein Wasserstoffacceptor während der Glucosegärung durch getötete Hefe nur frühzeitig in Aktion treten kann. Die Anwendung desselben bei der Brenztraubensäure ist wahrscheinlich schon verspätet. Hieraus folgt die Notwendigkeit eines Versuches, dem Wasserstoffacceptor irgendwelchen Zwischensubstanzen, die einer Zersetzung durch getötete Hefe fähig sind, hinzuzufügen. Bei der Annahme, daß während der alkoholischen Gärung die Spaltung der Glucose unter Anteilnahme des Wassers stattfindet, würde folgen, daß sich unter den Spaltungsprodukten der Glucose organische Säuren vorfinden; deshalb wurde von uns im Laufe dieser Arbeit der Versuch angestellt, den Wasserstoffacceptor zur Gärung der ersten Oxydationsprodukte der Glucose anzuwenden. Als solche erscheinen Säuren, wie Glucuron-, Gluconund Zuckersäure:

d-Glucose	d-Gluconsäure	d-Glucuronsäure	d-Zuckersäure
C—OH	COOH	C—OH	COOH
H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH
OH—C—H	OH—C—H	HO—C—H	HO—C—H
H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH
H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH	H—C—OH
CH_2OH	CH_2OH	COOH	COOH

Eine 50 $^0/_0$ige Lösung von Gluconsäure wurde von Kahlbaum bezogen. Daß die Gluconsäure von der Hefe zersetzt wird, haben schon Neuberg und Tir[2]) gezeigt. Für unsere

[1]) Auf Grund des Versuches von Lvoff.

[2]) C. Neuberg und L. Tir, diese Zeitschr. 32, 323, 1911. — C. Neuberg und J. Kerb, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 47, 1308, 1914.

Versuche boten die chemischen Versuche Wielands[1]) ein besonderes Interesse dar. Er fand, daß die Gluconsäure in Gegenwart von Palladium und Methylenblau sich unter Ausscheidung von Kohlensäure zersetze. Als ein Teil unserer Versuche mit der Gluconsäure schon beendet war, erschien eine interessante Abhandlung von A. v. Lebedew[2]), in der auch er angibt, daß die Gluconsäure sehr gut von der Hefe zersetzt wird und daß außer Kohlensäure noch Wasserstoff als Nebenprodukt ausgeschieden wird. Auch gibt er an, daß die schon von Neuberg und Tir beschriebene Zersetzung der Glycerinsäure durch Hefe von der Bildung des Acetaldehyds, der Kohlensäure und des Wassers begleitet wird. Einer von uns hatte schon die Meinung ausgesprochen, daß die alkoholische Gärung, wie auch die Atmung, nicht nur von der Assimilation des Wassers, sondern auch von der Bildung desselben begleitet wird. Lebedew nimmt an, daß die Zersetzung der Gluconsäure mittels eines besonderen Ferments, der Dehydratase, vor sich gehe. Die von Kahlbaum bezogene Glucuronsäure war ziemlich unrein; wegen ihres hohen Preises ist sie für physiologische Versuche wenig zugänglich. Ein Teil der Versuche wurde mit Milchsäure ausgeführt. Für die Versuche wurde Hefanol oder Trockenhefe nach A. v. Lebedew angewandt. Zur Sterilisation wurden jedem Gefäß je 2 ccm Toluol zugesetzt. Die Menge der ausgeschiedenen Kohlensäure wurde mit Hilfe der Pettenkoferschen Röhren bestimmt.

Versuch 1.

Zwei Portionen zu je 3 g Hefanol. I. Portion: 50 ccm Wasser; II. Portion: 50 ccm 2%ige, durch Kalilauge neutralisierte Gluconsäure. Temperatur während des Versuches: 17 bis 18°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Gluconsaures Kalium	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
2h	12,8	6,4	16,8	8,4
2h	8,8	4,4	27,0	13,5
18h	34,8	1,9	60,0	3,3
22h	56,4	—	103,8	—
			+83%	

[1]) H. Wieland, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 46, 3332, 1913.

[2]) A. v. Lebedew, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 47, 660, 1914.

Versuch 2.

Zwei Portionen zu je 3 g Hefanol. I. Portion: 50 ccm 2%ige, durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure. II. Portion: 50 ccm 15%ige Saccharose. Temperatur: 17 bis 19°.

Versuchsdauer	1. Gluconsaures Kalium		2. Saccharose	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
4½h	36,2	8,04	77,5	17,2
18½h	54,0	2,9	97,2	5,3
28h	20,6	0,7	42,4	1,51
50h 50′	110,8	—	217,1	—

Versuch 3.

Drei Portionen zu je 5 g Hefanol. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 2%ige, durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure. III. Portion: 50 ccm 2%ige, durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure, ½% Methylenblau. Versuchstemperatur: 17 bis 18°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Gluconsaures Kalium		3. Gluconsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3h	20,8	6,9	27,6	9,2	33,6	11,2
3h	10,4	3,5	31,6	10,5	74,8	24,9
21h 45′	24,4	1,1	38,8	1,8	85,2	3,0
27h 45′	55,6	—	98,0	—	193,6	—
			+ 76%		+ 248%	

Versuch 4.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe nach v. Lebedew. I. Portion: 50 ccm 2%ige Gluconsäure. II. Portion: 50 ccm 2%ige durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure. III. Portion: 50 ccm durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure, ½%iges Methylenblau. Versuchstemperatur 17 bis 18°.

Versuchsdauer	1. Gluconsäure		2. Gluconsaures Kalium		3. Gluconsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3h 00′	14,0	4,7	30,0	10,0	57,8	19,3
3h 40′	6,0	1,6	21,6	5,9	28,0	7,6
24h 50′	25,2	1,0	54,0	2,2	49,4	2,0
31h 30′	45,2	—	105,6	—	135,2	—
			+ 133%		+ 199%	

Versuch 5.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe nach v. Lebedew. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 2%ige durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure III. Portion: 50 ccm 2%ige durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure, $^1/_2$%iges Methylenblau. Versuchstemp. 17 bis 19°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Gluconsaures Kalium		3. Gluconsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3^h 05′	20,2	6,5	26,8	8,6	50,4	16,3
1^h 50′	9,4	5,1	18,0	9,8	28,0	15,2
22^h 40′	35,2	1,5	43,2	1,9	92,6	4,1
27^h 35′	64,8	—	88,0	—	171,0	—
			+ 35%		+ 163%	

Versuch 6.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm Wasser, $^1/_2$%iges Methylenblau. III. Portion: 50 ccm 2%ige durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure, $^1/_2$%iges Methylenblau. Versuchstemperatur 17 bis 18°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Wasser + Methylenblau		3. Gluconsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3^h	23,6	7,8	25,4	8,4	59,8	19,9
3^h	8,6	2,8	8,4	2,8	55,6	18,5
21^h	40,8	1,9	29,6	1,4	87,4	4,2
27^h	73,0	—	63,4	—	202,8	—
			— 14%		+ 176%	

Versuch 7.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser, $^1/_2$%iges Methylenblau. II. Portion: 50 ccm 2%ige durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure, $^1/_2$%iges Methylenblau. III. Portion: 50 ccm 1%ige durch Ätzkali neutralisierte Gluconsäure, $^1/_2$%iges Methylenblau. Versuchstemperatur 18 bis 19°.

Versuchsdauer	1. Wasser + Methylenblau		2. 2%iges Gluconsaures Kalium + Methylenblau		3. 1%iges Gluconsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3^h	27,0	9,0	49,2	16,4	59,6	19,5
3^h	8,4	2,8	57,4	19,1	53,6	17,8
18^h	} 25,2	1,2	75,2	4,1	61,6	3,4
3^h			7,2	2,4	8,4	2,8
27^h	60,6	—	189,0	—	183,2	—
			+ 211%		+ 202%	

Da das zuckersaure Kalium eine saure Reaktion auf Lackmus zeigte, so wurde dasselbe in den folgenden Versuche durch Ätzkali neutralisiert.

Versuch 8.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 1 %ige durch Ätzkali neutralisierte Glucuronsäure. III. Portion: 50 ccm 1 %ige durch Ätzkali neutralisierte Glucuronsäure, ½ %iges Methylenblau. Versuchstemperatur 18°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Glucuronsaures Kalium		3. Glucuronsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3h	16,8	5,6	20,0	6,6	24,0	8,0
3½h	8,0	3,2	9,2	3,7	6,8	2,7
18½h	25,0	1,3	35,6	1,9	20,8	1,1
25h	49,8	—	64,8	—	51,6	—
			+ 30 %		+ 3,5 %	

Versuch 9.

Drei Portionen zu je 50 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 1 %iges zuckersaures Kalium. III. Portion: 50 ccm 1 %iges zuckersaures Kalium, ½ %iges Methylenblau. Versuchstemp. 17,5 bis 18,5°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Zuckersaures Kalium		3. Zuckersaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
3h	11,6	3,9	12,4	4,1	7,0	2,3
3h	19,2	6,4	24,0	8,0	30,6	10,2
22h	31,4	1,4	26,4	1,2	36,0	1,6
28h	62,2	—	62,8	—	73,6	—
			+ 0,6 %		+ 18 %	

Versuch 10.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 1 %iges durch Ätzkali neutralisiertes zuckersaures Kalium. III. Portion: 50 ccm 1 %iges durch Ätzkali neutralisiertes zuckersaures Kalium, ½ %iges Methylenblau. Versuchstemp. 17 bis 19°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Zuckersaures Kalium		3. Zuckersaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
2h 30′	16,8	6,5	20,4	8,3	20,4	8,2
3h 00′	11,6	3,9	10,4	3,4	11,2	3,7
20h 45′	30,4	1,4	31,2	1,5	29,6	1,4
26h 15′	48,8	—	62,0	—	61,2	—
			+ 27 %		+ 25 %	

Versuch 11.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 1%iges milchsaures Kalium, III. Portion: 50 ccm 1%iges milchsaures Kalium, ½%iges Methylenblau. Versuchstemperatur 17 bis 18°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Milchsaures Kalium		3. Milchsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
1½ʰ	10,8	7,2	12,4	8,3	32,0	21,3
2¼ʰ	11,2	5,1	20,0	8,8	28,0	12,4
3¼ʰ	10,2	3,1	15,6	4,8	21,6	6,6
18ʰ 20′	26,8	1,4	30,8	1,6	31,6	1,7
25ʰ 20′	59,0	—	78,8 + 33%	—	113,2 + 92%	—

Versuch 12.

Drei Portionen zu je 5 g Trockenhefe. I. Portion: 50 ccm Wasser. II. Portion: 50 ccm 1%iges durch Ätzkali neutralisiertes milchsaures Kalium. III. Portion: 50 ccm 1%iges durch Ätzkali neutralisiertes milchsaures Kalium, ½%iges Methylenblau. Versuchstemperatur 17,5 bis 18°.

Versuchsdauer	1. Wasser		2. Milchsaures Kalium		3. Milchsaures Kalium + Methylenblau	
	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.	CO_2 mg	CO_2 in 1 Std.
2ʰ 00′	7,8	3,9	10,8	5,4	21,2	10,6
4ʰ 35′	15,6	3,4	18,8	4,1	44,0	9,6
16½ʰ	24,0	1,4	28,4	1,7	37,2	2,2
23ʰ 05′	47,4	—	58,0 + 22%	—	102,4 + 115%	—

Nimmt man nun die Menge der sich aus Wasser ausscheidenden Kohlensäure zu 100 an, so erhält man:

Versuch	Wasser	Wasser + Methylenblau	Freie Säure	Kaliumsalz	Kaliumsalz + Methylenblau
		Gluconsäure			
1. Hefanol . . .	100	—	—	183	—
3. „ . . .	100	—	—	176	348
4. Trockenhefe nach Lebedew.	—	—	100	233	299
5. „	100	—	—	135	263
6. „	100	86	—	—	276
7. „	—	100	—	—	311

Versuch		Wasser	Wasser + Methylenblau	Freie Säure	Kaliumsalz	Kaliumsalz + Methylenblau
			Glucuronsäure			
8.	„	100	—	—	130	103,5
			Zuckersäure			
9.	„	100	—	—	100,6	118
10.	„	100	—	—	127	125
			Milchsäure			
11.	„	100	—	—	133	192
12.	„	100	—	—	122	215

Auf Grund der erwähnten Versuche folgt:

1. In Übereinstimmung mit den Versuchen Neubergs und Lebedews wird die Gluconsäure in Form ihres Kaliumsalzes durch getötete Hefe gut zersetzt.

2. Freie Gluconsäure wirkt schädlich auf die getötete Hefe ein.

3. Zugabe von Methylenblau erhöht sehr die Menge der sich ausscheidenden Kohlensäure. Im Vergleich zu der Menge der sich aus Wasser ausgeschiedenen Kohlensäure erhöht die Zugabe von Kaliumsalz der Gluconsäure die Menge der sich ausscheidenden Kohlensäure von 35 bis 80°/₀; nach Zugabe von Methylenblau wird die Menge der sich ausscheidenden Kohlensäure bis 200°/₀ erhöht.

Eine solche Stimulation der Kohlensäureausscheidung durch Methylenblau kann als beiläufige Bestätigung der Beobachtung von Lebedew dienen, daß die Zersetzung der Gluconsäure von Wasserstoffausscheidung begleitet wird. In der Hefe ist ein besonderes Reduktionsferment vorhanden, das fähig ist, in Gegenwart eines Wasserstoffacceptors einige organische Säuren unter Kohlensäureausscheidung energisch zu zersetzen.

4. Glucuronsäure in Form von Kaliumsalz wird ebenso durch getötete Hefe zersetzt, wenn auch weniger energisch, als Gluconsäure. Ihr Verhalten zu Methylenblau ist jedoch ein völlig anderes: Methylenblau hält die Glucuronsäurezersetzung an.

5. Zuckersäure in Form von Kaliumsalz wird von getöteter Hefe zersetzt; Methylenblau stimuliert diesen Prozeß nicht.

6. Milchsäure in Form von Kaliumsalz wird, in Übereinstimmung mit verschiedenen Autoren, durch getötete Hefe unter Kohlensäureausscheidung zersetzt. Methylenblau stimuliert diesen Prozeß sehr stark.

7. Die Zersetzung der Glucon- und Milchsäure durch abgetötete Hefe unter Kohlensäureausscheidung in Gegenwart eines Wasserstoffacceptors erscheint als erster gelungener Versuch einer künstlichen Verwandlung der Gärung in Atmung[1]).

---

[1]) Hieraus folgt noch nicht, daß auch wärend der normalen Atmung mittels Atmungspigmenten die genannten Säuren zersetzt werden. Wahrscheinlich werden einfachere Verbindungen zersetzt, wie z. B. Acetaldehyd. Zugunsten des Acetaldehyds als Zwischenprodukt bei normaler Atmung spricht das Vorhandensein von Carboxylase bei höheren Pflanzen. In dieser Richtung werden von uns Versuche angestellt.

Über das Enzym der Chelidoniumsamen.

II. Mitteilung.

Von

Konrad Bournot.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Leipzig.)

(Eingegangen am 28. Mai 1914.)

Im folgenden sollen die in meiner ersten Mitteilung[1]) über die Eigenschaften und Wirkungen des Chelidoniumenzyms enthaltenen Angaben in einigen Punkten vervollständigt werden. Da (vgl. I. Mitt. S. 175) die Isolierung des Enzyms nicht so befriedigend gelungen war wie bei den Ricinussamen, so wurde zunächst das Ausgangsmaterial — die käuflichen Samen — einer erneuten Untersuchung unterzogen, um zu entscheiden, nach welcher Vorbearbeitung das Rohmaterial am zweckmäßigsten zu enzymatischen Versuchen verwendet wird.

Mit diesen Fragen beschäftigt sich der erste Abschnitt der gegenwärtigen Abhandlung.

Wie sich aus der ersten Mitteilung ergab, beruht das Hauptinteresse des Chelidoniumenzyms in seiner den anderen bisher bekannten Enzymen gegenüber ziemlich stark entwickelten Fähigkeit, Synthesen von Estern zu bewirken. Nach dieser Richtung sind in qualitativer und quantitativer Hinsicht noch Versuche ausgeführt worden, über deren Resultate der zweite Abschnitt dieser Mitteilung berichtet.

I. Verhalten des lipolytischen Enzyms bei verschiedener Vorbehandlung der Samen.

1. Eigenschaften und Vorbehandlung des Rohmaterials.

Die Chelidoniumsamen (0,5 mm dick und 1 mm lang) haben durchschnittlich ein Gewicht von 0,0007 g. Unzerkleinert sind

[1]) K. Bournot, diese Zeitschr. 52, 172, 1913.

sie lipolytisch unwirksam, quellen in Wasser nicht auf, und die Schale läßt sich ohne Zerkleinerung der Samen nicht entfernen.

Durch feine Verreibung im eisernen Mörser erhält man eine salbenähnliche Masse, aus der sich die gröberen Partikel ohne vorherige Beseitigung des fetten Öles nicht abtrennen lassen. Die lipolytische Wirkung dieser Masse ist um so größer, je feiner der Samen zerkleinert ist, und wird auch durch längeres Verreiben nicht geringer[1]). So waren einmal von 1,0 g Cottonöl durch 0,1 g nur kurze Zeit verriebener Samen nach 7 Stunden 53 %, das andere Mal durch 0,1 g 2 Stunden lang im Achatmörser verriebener Samen unter den gleichen Bedingungen 58,2 % verseift (Gemisch andauernd geschüttelt bei 30°). Durch 3 Tage lang fortgesetztes Erwärmen auf 60°, sowie auch nach sehr langem Aufbewahren (4 Monate) verliert der zerkleinerte Samen an Wirksamkeit. Im ersteren Falle (Erwärmen) wurden unter obigen Bedingungen nur 30,4 %, im letzteren 41,5 % verseift.

2. Eigenschaften der entfetteten Samen.

Durch Auspressen der wie oben angegeben zerriebenen Samen lassen sich 75 % des Öles aus letzteren entfernen. Das ausgepreßte filtrierte Öl war lipolytisch unwirksam, der Preßrückstand etwas wirksamer als das Pulver der durch Petrolätherextraktion völlig entfetteten Samen. Durch längeres (1 bis 2stündiges) Verreiben im Achatmörser wird aber die Wirksamkeit des Preßrückstandes herabgesetzt. Nachstehende Versuchsdaten geben Aufschluß über die Folgen der verschiedenen Vorbehandlung.

Je 1 g Cottonöl, 10 g Wasser, 0,1 g Samen werden bei 30° andauernd geschüttelt.

Zeit in Stunden	Verseiftes Öl			
	a	b	c	d
2	29,3 %	20,0 %	18,2 %	12 %
5	50,3 %	39,2 %	39,5 %	30 %
7	58,2 %	50,0 %	46,0 %	

a) mit nicht entfettetem Samen,
b) „ ausgepreßtem Samen,
c) „ mit Petroläther extrahiertem Samen,
d) „ lange verriebenem, ausgepreßtem Samen.

[1]) Gegensatz im Verhalten zu den später zu besprechenden entfetteten Samen.

Durch Extraktion der zerkleinerten Samen — 2 bis 3 Stunden lang im Soxhletschen Apparat — mit Äther oder Petroläther wird ein fettfreies Pulver gewonnen, das ich zu den meisten in der ersten Mitteilung enthaltenen Versuchen verwendete. Neuerdings habe ich aus diesem Produkt mit Hilfe eines feineren Haarsiebes die gröberen Partikel (Fragmente der Schale) abtrennen und so ein sehr feines Pulver erhalten können. Der Wirkungswert des gesamten entfetteten Pulvers war um ca. 25% gegen den des nicht entölten Samens herabgesetzt. Das feine, durch Sieb Nr. 6 geschlagene Pulver — es wird hinfort mit Pulver A bezeichnet — erwies sich als wirksamer als das Gesamtpulver, und zwar kam seine Wirksamkeit der des nicht entfetteten Samens gleich.

Bei dem Versuch, die Wirksamkeit von Pulver A durch nochmaliges Verreiben zu erhöhen, zeigte sich, daß hierbei die Lipase geschwächt, bzw. zerstört wurde. Aus dem folgenden Versuch ist zu ersehen, daß das vollkommen trockene Pulver A allein durch mechanische Einwirkung in seinen lipolytischen Eigenschaften stark beeinträchtigt wird.

Je 1 g Cottonöl, 1 g Wasser, 0,1 g Pulver A werden andauernd geschüttelt bei 30°.

Zeit in Stunden	Verseiftes Öl				
	a	b	c	d	e
3	32,3%	30,1%	11,4%	12,7%	21,4%
6	54,0%	55,3%	22,8%	29,6%	42,3%

a) mit Pulver A

b) „ „ „ nach 2stündigem Überleiten von O über dasselbe,

c) „ „ „ „ 6stündigem Verreiben in der Kugelmühle in Luft,

d) „ „ „ „ 6stündigem Verreiben in der Kugelmühle in CO_2,

e) „ „ „ „ 6stündigem Verreiben in der Kugelmühle im Vakuum.

Der Wirkungswert der im Pulver A enthaltenen Lipase nimmt demnach ab beim Verreiben

in Luft . . . . um 61%,
in CO_2 . . . . „ 52%,
im Vakuum . . „ 23%.

Durch diese Befunde wird dargelegt, daß das ziemlich freigelegte Enzym, wie es in dem feinen, entfetteten Samenpulver

vorliegt, durch die mechanische Einwirkung eine Umwandlung erleidet, die es in seiner Wirkungsweise beeinträchtigt. Entweder wird die Struktur[1]) der Lipase selbst verändert, oder es liegen Adsorptionserscheinungen vor, insofern als die Lipase von den im trockenen Pulver noch anderweitig vorhandenen Stoffen okkludiert und unwirksam gemacht wird. Für die letztere Annahme spricht die Tatsache, daß die Schwächung des Enzyms nur beim Verreiben der entfetteten, nicht aber der fetthaltigen Samen stattfindet. In anderer Hinsicht wird hiermit auch bestätigt, daß Enzyme durch das Medium, das sie zur Reaktion bringen, geschützt werden[2]), und zwar nicht nur gegen chemische, sondern auch gegen mechanische Einflüsse.

Schließlich stellte sich noch heraus, daß bei der Digestion der gut verriebenen Samen mit Petroläther ein Präparat gewonnen werden konnte, das in sehr geringer Menge (1:100) angewendet, auch Pulver A an Wirkungswert übertraf. Zur Darstellung wird der sehr fein verriebene Samen mit der gleichen Menge Petroläther 24 Stunden lang bei 20° unter öfterem Umschütteln in einer geräumigen verschließbaren Flasche digeriert, so daß die Flüssigkeitshöhe über dem Pulver nicht mehr als 1 bis 2 cm beträgt. Die hierbei sich über den gröberen Bestandteilen absetzende, zum Teil im Petroläther suspendierte Aufschwemmung läßt sich leicht von der unteren Schicht durch Abgießen trennen. Nach Abfiltrieren und Auswaschen mit Petroläther erhält man ein sehr feines Pulver (Pulver B), 11% des verwendeten Samens. Pulver B ist dann mit Vorteil zu verwenden, wenn mit sehr kleinen Enzymmengen bei Zimmertemperatur (18 bis 22°) eine Verseifung erzielt werden soll. Das Gemisch aus Enzym, Öl und Wasser (50%) wird hin und wieder geschüttelt, bis nach 12 bis 24 Stunden eine vollständige Emulsion entstanden ist. — Diese Emulsionsbildung erfolgt mit den

---

[1]) Nach **Warburg** (Erg. d. Physiol. **1914**, 314) kommt bei der Oxydationsbeschleunigung durch Zellen sowohl eine chemische als auch eine mehr physiko-chemische Wirkung zur Geltung. Letztere ist durch die Struktur der Zellen bedingt und wird durch Zerkleinerung der letzteren mit einem stählernen Kugellager (**Barnard** und **Hewlett**, Proc. roy. Soc. B. **84**) aufgehoben.

[2]) C. **Lombroso**, **1**, 1043, 1913.

anderen gröberen Enzympräparaten, auch mit Pulver A und mit dem verriebenen Pulver B, nicht. — Überläßt man dann die Emulsion sich selbst, so wird das Substrat zwar langsam, aber weitgehend schon mit 0,2 bis 1 % Enzymzusatz gespalten. Bedingung ist, daß die Emulsion erhalten bleibt, z. B. darf die Temperatur bei Cottonöl als Substrat nicht über 23° steigen. Arbeitet man bei höherer Temperatur, 30 bis 35°, so ist, da dann niemals Emulsionsbildung eintritt, andauerndes Schütteln unerläßlich. Hierbei geht die Reaktion zwar schneller vor sich, aber die kleinen Enzymmengen werden vorzeitig unwirksam; zur vollständigen Verseifung ist ein Zusatz von mindestens 2 % Pulver B notwendig. Pulver A gibt unter diesen Bedingungen dieselben Resultate. Folgende Versuchsdaten geben Aufschluß über den Wirkungswert von Pulver B bei 20° und bei 30°.

Es wird Cottonöl als Substrat mit 50 % Wasserzusatz und verschiedenen Enzymmengen verwendet.

Zeit in Stunden	Gespaltenes Öl mit				Bemerkungen
	0,2 % Pulver B %	0,5 % Pulver B %	1 % Pulver B %	2 % Pulver B %	
20	14	16	26	37	Bei Zimmertemperatur (ca. 20°) mit zeitweiligem Schütteln in den ersten 24 Stunden.
40	25	26	50	73	
120	40	66	86	92	
160	51	79	90	—	
6	—	—	—	36	Bei 30° unter andauerndem Schütteln.
17	—	25	37	—	
24	—	43	49	73	
40	—	48	58	86	
72	—	55	60	—	
96	—	58	—	—	
120	—	59	—	—	

Charakteristisch für die Chelidoniumlipase ist also, daß es viel schwieriger ist, mit derselben gute Emulsionen zu erhalten, als wie mit der Ricinuslipase. Da die Emulsionsbildung nicht unbedingt notwendig ist für eine gute Verseifung — Schütteln des heterogenen Gemisches vorausgesetzt —, da ferner Pulver B gegen äußere Einflüsse ziemlich empfindlich ist, so kann zur Gewinnung einer wirksamen Lipase die Darstellung von Pulver A als einfachste und beste Methode empfohlen werden.

3. Eigenschaften des bei der Vorbehandlung gewonnenen fetten Öles.

Das Chelidoniumöl wurde 1. durch Auspressen in der Kälte, 2. durch Extraktion im Soxhletschen Apparat mit Äther oder Petroläther, 3. durch Digerieren bei Zimmertemperatur mit Petroläther gewonnen. Die auf die beiden ersten Arten gewonnenen Öle waren lipolytisch unwirksam; das auf die letzte Art erhaltene Öl, wobei der Petroläther bei 20° im Vakuum entfernt wurde, hatte fettspaltende Eigenschaften und wurde genauer untersucht. Die Zusammensetzung des Öles war bei den zu verschiedenen Zeiten bezogenen Samen nicht dieselbe; meist waren 50 bis 60%, einmal nur 20% freie Fettsäuren vorhanden[1]). Die Verseifungszahl schwankte zwischen 190 und 198.

Beim Digerieren des Samens wurden 30% Öl und 11% eines feinen weißlichen Pulvers (Pulver B, siehe Abschnitt 2) gewonnen, das sich bedeutend wirksamer als der grobe Rückstand erwies. Das Öl selbst ließ sich filtrieren, ohne seine lipolytischen Eigenschaften zu verlieren, dieselben nahmen aber im Laufe der Zeit in geringem, beim Erwärmen auf 30° in hohem Maße ab. Das in dem Öl gelöste Enzym ist also sehr empfindlich; auch ist verhältnismäßig wenig Lipase gelöst, denn die Verseifung erfolgt langsam und erreicht bei einem Zusatz von weniger als 50% Chelidoniumöl ein Maximum von nur 50% gespaltenen Fettes. Für die Gewinnung eines enzymhaltigen Öles ist es notwendig, daß der zerkleinerte Samen mit Petroläther verrieben oder digeriert wird. Durch diese Behandlung wird die Lipase wahrscheinlich freigelegt und in lösliche Form gebracht. Wird dagegen der Samen direkt mit einem anderen Öl verrieben, so bleibt die Wirkung aus.

Die Wirksamkeit des enzymhaltigen Öles wurde bestimmt

1. durch Autolipolyse,

2. durch Verseifung in verschiedenen Mengen zugesetzten Cottonöles.

---

[1]) Auch die Dauer der Digestion, die in der Regel 24 Stunden betrug, ist von Einfluß auf die Säurezahl, da während der Digestion Lipolyse stattfindet. So stieg während 4tägiger Digestion mit Petroläther die Säurezahl des Öles von 38 auf 152.

In beiden Fällen war mit einem stark säurehaltigen Chelidoniumöl (mit 50 bis 60 % freien Säuren) dasselbe Maximum (ca. 90 % freie Säure in 4 Tagen bei 20°) zu erreichen. Mit einem Chelidoniumöl, das nur 19 % freie Fettsäuren enthielt, wurde bei der Autolipolyse in 4 Tagen ein Maximum von 50 %, mit Cottonöl ein solches von 60 % erreicht. Je nach der Menge des zugesetzten Cottonöles ist das zu erreichende Maximum verschieden. Letzteres betrug bei einem Zusatz von

100 % Chelidoniumöl . . . 90 %,
40 % „ . . . 55 %,
20 % „ . . . 45 %,
10 % „ . . . 41 %

gespaltenes Gesamtfett.

Chelidoniumöl und Wasser ohne jeden Zusatz bilden keine Emulsion, daher erhöht andauerndes Schütteln des Gemisches die Reaktionsgeschwindigkeit, wenn auch nicht sehr erheblich. Bei der Spaltung von Cottonöl mit einem mehr oder weniger großen Zusatz von Chelidoniumöl und 40 bis 50 % Wasser erfolgt nach einiger Zeit Emulsionsbildung, die den Vorgang begünstigt, aber die allmähliche Zerstörung des Enzyms nicht verhindert.

Die folgenden Tabellen geben Aufschluß über die Geschwindigkeit, mit der die Verseifung erfolgt.

Tabelle V.

Autolipolyse von verschiedenen Chelidoniumölen.
Je 0,8 g Öl und 1,0 ccm Wasser werden bei 20° gemischt.
a) Chelidoniumöl mit der Säurezahl 115,6,
b) „ „ „ „ 37,7.

Zeit in Stunden	a)			b)			Bemerkungen
	Freie Säure %	Zunahme der Säure %	Säurezahl	Freie Säure %	Zunahme der Säure %	Säurezahl	
0	59,2	0	115,6	19,3	0	37,7	Mit andauerndem Schütteln.
6	63,4	4,2	123,8	26,1	6,8	51,0	
24	77,0	17,8	150,4	34,0	14,7	66,4	
48	81,0	21,8	158,1	—	—	—	
24	—	—	—	30,0	10,7	58,6	Täglich 4 mal umgeschüttelt.
48	—	—	—	38,0	18,7	74,2	
72	—	—	—	—	—	—	
96	86,1	24,9	164,2	50,0	30,7	97,5	

Tabelle IV.

Lipolyse von gleichen Teilen Chelidoniumöl und Cottonöl.

Je 0,4 g Chelidoniumöl, 0,4 g Cottonöl, 1,0 ccm Wasser werden bei 20° gemischt.

a) Chelidoniumöl mit der Säurezahl 115,6,
b) " " " " 37,7.

Zeit in Stunden	a)			b)			Bemerkungen
	Freie Säure %	Zunahme der Säure %	Säurezahl des Gemisches	Freie Säure %	Zunahme der Säure %	Säurezahl des Gemisches	
0	29,6	0	57,8	9,6	0	18,8	Unter andauerndem Schütteln.
6	41,7	12,1	81,2	27,6	18,0	54,6	
15	49,0	19,4	95,2	—	—	—	
24	54,7	25,1	107,1	45,5	35,9	88,2	
48	66,1	36,5	130,2	—	—	—	
24	51,2	21,6	97,3	36,5	26,9	71,4	4 mal täglich geschüttelt.
48	—	—	—	52,0	42,4	101,5	
72	—	—	—	60,0	50,4	114,1	
96	90,1	60,5	171,0	—	—	—	

Das in dem Öl gelöste Enzym kommt also in seinen lipolytischen Eigenschaften dem Pulver B sehr nahe. Besonders hervorzuheben ist seine Fähigkeit, Emulsionen zu bilden, seine große Empfindlichkeit, die sich auch in der Abnahme der Wirksamkeit während der Reaktion zeigt.

II. Über Estersynthesen mittels des Chelidoniumenzyms.

Es ist früher[1]) gezeigt worden, daß die Samen von Chelidonium majus in hervorragender Weise die Fähigkeit haben, Estersynthesen zu bewirken. Durch die folgenden Versuche sollten die Bedingungen hierfür näher studiert, ferner sollte festgestellt werden, wieweit die verschiedenen Alkohole und Säuren für die enzymatische Esterbildung geeignet sind, ob vielleicht zwischen Konstitution einer Verbindung und ihrem Verhalten gegenüber dem Enzym Zusammenhänge nachzuweisen wären.

1. Feststellung des Gleichgewichtes, das bei der enzymatischen Estersynthese erfolgt a) bei Anwendung äquivalenter Mengen von Säure und Alkohol.

Wendet man äquivalente Mengen Alkohol und Säure an, so wird das durch die Enzymwirkung erreichbare Gleichgewicht,

[1]) Diese Zeitschr. 52, 172.

der Grenzwert, verglichen mit dem der Theorie entsprechenden, zugunsten der Esterbildung verschoben. Nach Menschutkin[1]) liegt der Grenzwert bei der Esterbildung aus Caprylsäure und Propylalkohol zwischen 66 und 70%, nach meinen eigenen Versuchen bei 68,5%, während das mit Chelidonium-Lipase erreichte Gleichgewicht 83,5% gebundene Säure beträgt.

Versuch.

I. 0,4326 g Caprylsäure und 0,1803 g Propylalkohol wurden in kleinen zugeschmolzenen Röhrchen auf 154° erhitzt.

Nach 3 Stunden waren 68,6% Säure gebunden,
" 6 " " 68,3% " "

II. 0,4326 g Caprylsäure, 0,1803 g Propylalkohol und 0,1 g entölter Chelidoniumsamen werden unter häufigem Schütteln bei 20° stehen gelassen.

Nach 24 Stunden waren 81,85% Säure gebunden,
" 48 " " 84,13% " "
" 96 " " 83,15% " "

Bei der enzymatischen Estersynthese aus Ölsäure und den meisten einwertigen primären Alkoholen liegt der Grenzwert bei ca. 90% (siehe unter b und Tabelle I), aus Ölsäure und Glycerin bei 41% (siehe unter 1, b und 2).

b) mit Alkohol im Überschuß.

Der mit Alkohol im Überschuß erreichbare Grenzzustand ist in der Regel nur wenig höher als der an und für sich schon hohe mit äquivalenten Mengen erreichte Grenzwert.

Gleichgewicht bei äquivalenten Mengen von:
Caprylsäure und Propylalkohol . . . 82 bis 84%,
Ölsäure und Butylalkohol 90%,
Ölsäure und Glycerin-Piktet . . . . . 40 bis 42%.
Gleichgewicht bei Überschuß (100%) von Alkohol:
Caprylsäure und Propylalkohol 85,2%,
Ölsäure und Butylalkohol 91,4%,
Ölsäure und Glycerin . . . . 60,0%.

Versuch.

I. 0,62 g reinste Ölsäure, die äquivalente Menge 0,163 g Butylalkohol, 0,1 g entölter Chelidoniumsamen werden andauernd geschüttelt bei 20°.

Nach 15 Stunden waren 78,7% Säure gebunden,
" 24 " " 89,8% " "
" 72 " " 90,0% " "

[1]) A. 195, 334.

II. Bedingungen wie bei I, mit 0,3 g Butylalkohol.

Nach 13 Stunden waren 80,2 % Säure gebunden,
" 24 " " 90,1 % " "
" 72 " " 91,4 % " "

2. Feststellung der günstigsten Bedingungen für die enzymatische Ölsäure-Glycerinester-Synthese.

Da es für die später zu besprechende Mono- bzw. Triolein-Synthese von Wichtigkeit war, eine möglichst weitgehende Esterbildung zu erzielen, wurden die bestmöglichen Bedingungen hierfür sehr eingehend studiert. Es zeigte sich, daß das Glycerin sich anders verhält als die primären Alkohole, insofern, als sowohl ein Glycerinüberschuß als auch Wasserzusatz die Synthese stark begünstigt. Die besten Resultate wurden erzielt, wenn Ölsäure und Glycerin + 5 % Wasserzusatz zu gleichen Teilen verwendet worden waren. In diesem Falle wurden bis 78 % Säure gebunden.

A. Versuche mit wasserfreiem Glycerin.

Einfluß der Glycerinmenge — Glycerinüberschuß begünstigt die Synthese.

I. Äquivalente Mengen von Glycerin und Säure.

0,62 g reinste Ölsäure, 0,07 g Glycerin, 0,1 g entölter Samen werden andauernd geschüttelt; Temperatur 20°.

Gebundene Säure nach 24 Stunden . . . . 38,4 %
" " " 48 " . . . . 42,3 %
" " " 72 " . . . . 40,1 %.

II. Bedingungen wie bei I, mit Glycerin im Überschuß (0,14 g Glycerin).

Gebundene Säure nach 24 Stunden . . . . . 37 %
" " " 48 " . . . . . 56 %
" " " 72 " . . . . . 60 %.

B. Versuche mit Glycerin + Wasserzusatz.

I. Einfluß der Wassermenge — mit 2 bis 5 % Wasserzusatz werden die besten Synthesen erzielt.

0,62 g Ölsäure, 0,6 g Glycerin, 0,1 g entölter Samen, andauernd geschüttelt bei 35° (der größeren Reaktionsgeschwindigkeit wegen) 24 Stunden lang (in dieser Zeit wird das Maximum erreicht[1]).

---

[1]) Versuch: 0,62 g Ölsäure, 0,62 g Glycerin + 5 % H_2O, 0,1 g entölter Samen, andauernd geschüttelt, 35°.

Gebundene Säure nach 24 Stunden . . . . 74,3 %
" " " 56 " . . . . 76,5 %
" " " 92 " . . . . 77,8 %.

Gebundene Säure bei	0 %	Wasserzusatz[1]	. .	13,5 %
" " "	2 %	"	. .	75,6 %
" " "	5 %	"	. .	76,1 %
" " "	10 %	"	. .	70,1 %
" " "	25 %	"	. .	59,7 %.

II. Einfluß der Glycerinmenge bei 5 % Wasserzusatz — das Optimum wird mit gleichen Mengen Säure und Glycerinmischung erreicht.

0,62 g Ölsäure, verschiedene Mengen Glycerin + 5 % H_2O, 0,1 g entölter Samen, andauernd geschüttelt bei 35°, 24 Stunden lang.

Gebundene Säure bei	0,08 g	Glycerinmischung	. .	47,7 %
" " "	0,15 g	"	. .	51,7 %
" " "	0,31 g	"	. .	66,7 %
" " "	0,62 g	"	. .	75,6 %
" " "	1,24 g	"	. .	64,5 %.

3. Vergleich verschiedener Alkohole bezüglich ihres Verhaltens bei der enzymatischen Estersynthese mit Ölsäure (Tabelle I, II).

Für die enzymatische Estersynthese — als Säure wurde die Ölsäure gewählt, die das Enzym nicht sonderlich angreift — sind im allgemeinen geeignet die ein-, zwei- und dreiwertigen, ungeeignet die vier- und mehrwertigen Alkohole. Die primären Alkohole sind leicht, die sekundären schwer und die tertiären noch schwerer oder gar nicht esterifizierbar. Dabei ist es gleichgültig, ob die Alkohole gesättigt oder ungesättigt und ob sie der aliphatischen oder der aromatischen Reihe angehören.

Aus Tabelle I, in der die einwertigen Alkohole miteinander verglichen werden, geht hervor, daß mit den primären Alkoholen dasselbe Maximum — ca. 90 % gebundene Säure — meist in kurzer Zeit (13 Stunden) erreicht wird. Die innerhalb der ersten 3 bis 6 Stunden gebildeten Estermengen sind im allgemeinen bei den Alkoholen mit hohem Molekulargewicht größer als bei denen mit niederen. Ausnahmen dieser, auch der allgemeinen von Menschutkin zuerst beobachteten Regel (Esterbildung durch Hitze und Druck[2]) entsprechenden Tatsache sind beim Octylalkohol, bei den aromatischen und bei den sekundären und tertiären Alkoholen vorhanden.

Unter den untersuchten sekundären Alkoholen, die sich wenig oder gar nicht zur Synthese eignen, nimmt der Iso-

[1]) Auf Glycerin bezogen.
[2]) Ann. chim. phys. 20, 23, 30.

propylalkohol eine Ausnahmestellung ein, insofern, als mit ihm ein Maximum von 43,5 % gebundene Säure erreicht wird.

Tabelle I.

Vergleich einwertiger Alkohole.

Je 0,1 g entölter Chelidoniumsamen, 0,643 g Ölsäure und die äquivalenten Mengen Alkohol werden gemischt und tagsüber 2 stündlich in gleicher Weise[1]) umgeschüttelt. Temperatur 20°.

	Namen des Alkohols	Menge	Gebundene Ölsäure nach Stunden						Erreichtes Maximum
			3	6,5	13	24	72	120	
		g	%	%	%	%	%	%	%
Primäre Alkohole	Methylalkohol . . .	0,073	28,9	51,7	58,2	62,5	—	63,4	63,4
	Äthylalkohol	0,105	31,8	49,1	62,9	72,5	—	89,0	89,0
	Propylalkohol . . .	0,137	51,2	67,3	76,3	90,1	—	88,3	90,1
	Butylalkohol	0,169	41,5	66,0	80,2	—	—	91,4	91,4
	Isobutylalkohol . .	0,169	66,8	73,7	88,4	—	—	91,4	91,4
	Amylalkohol	0,200	54,7	71,6	83,6	—	—	91,2	91,2
	Octylalkohol	0,296	34,5	59,5	85,3	—	89,1	89,7	89,7
	Benzylalkohol . . .	0,246	16,4	29,8	55,2	—	—	76,3	76,3
	Zimtalkohol	0,306	34,9	57,3	—	—	—	87,1	87,1
	Geraniol.	0,347	—	9,1	16,0	—	32,8	36,7	36,7
Sekundäre Alkohole	Isopropylalkohol . .	0,137	—	6,5	—	14,6	—	43,5	43,0
	Sekundamylalkohol .	0,198	—	1,0	—	2,2	—	9,0	9,4
	Sekundoctylalkohol .	0,296	—	2,2	—	8,2	—	16,0	16,0
	Menthol	0,356	—	—	—	0	—	0	0
	Borneol	0,351	—	—	—	0	—	0	0
Tertiäre Alkohole	Tertiärer Amylalkohol	0,198	—	—	—	0	—	0	0
	Linacrol	0,351	—	—	—	0	—	0	0
	Carvacrol	0,342	—	—	—	—	—	0	0
	Phenol	0,215	—	—	—	—	—	0	0

Tabelle II lehrt, daß die zwei- und dreiwertigen Alkohole im allgemeinen esterifizierbar sind. Das erreichbare Maximum — zwischen 42 und 59 % gebundene Säure — ist niedriger als bei den einwertigen Alkoholen. Pinakon ist gänzlich ungeeignet, Äthylenglykol entspricht in seinem Verhalten dem Methylalkohol insofern, als es auch eine starke Schädigung auf das Enzym ausübt und nur bei Anwendung sehr kleiner Mengen für die Synthese brauchbar ist. Mit Glykol bzw. mit Methylalkohol im Überschuß wurden Maxima von nur 7,2 % bzw.

[1]) Alle Versuche wurden mit weithalsigen, gut verschließbaren 5-g-Fläschchen ausgeführt. Bei nur zeitweiligem Schütteln wurden dieselben Resultate erzielt wie bei andauerndem Schütteln in zugeschmolzenen Röhrchen, was bei der geringen Flüssigkeitshöhe und der relativ großen Enzymmenge erklärlich ist.

32,5 % (gegen 59 % bzw. 63 % mit äquivalenten Mengen) erreicht.

Tabelle II.

Vergleich mehrwertiger Alkohole.

Je 0,1 g entölter Chelidoniumsamen, 0,643 g Ölsäure und die äquivalenten Mengen Alkohol werden gemischt und in zugeschmolzenen Röhrchen andauernd geschüttelt[1]). Temperatur 20°.

Name des Alkohols	Menge des Alkohols g	Gebund. Ölsäure nach Stunden 24 %	48 %	72 %	Erreichtes Maximum %
Äthylenglykol . .	0,07	58,6	59,1	59,2	59,2
Propylenglykol . .	0,09	44,8	46,3	50,5	50,5
Pinakon	0,10	—	0	0	—
Glycerin	0,07	38,4	42,3	41,3	41,3
Condurit	0,13	—	0	0	—
Mannit	0,13	—	0	0	—
Quercit	0,14	—	0	0	—

4. Vergleich verschiedener Säuren hinsichtlich ihres Verhaltens bei der enzymatischen Estersynthese mit Isobutylalkohol (Tabelle III und IV).

Die Versuche wurden mit Isobutylalkohol ausgeführt, da derselbe das Enzym wenig schädigt. Es kamen von dem Alkohol stets dieselben — das Doppelte der berechneten Menge —, von den Säuren dem Alkohol äquivalente Mengen zur Anwendung.

Die meisten Säuren vom Typus $R.CH_2COOH$ eignen sich gut für die Synthese, die vom Typus $R_2.CH.COOH$ und $R_3C.COOH$, mit Ausnahme der Isobuttersäure und Benzoesäure gar nicht. Demnach sind auch hier Beziehungen vorhanden zu der von Menschutkin aufgestellten allgemeinen Regel, daß die Esterifizierungsgeschwindigkeit der Säuren vom Typus $R.CH_2.COOH$ bedeutend größer ist als die der Säuren vom Typus $R_2CH.COOH$ und $R_3.C.COOH$. Tabelle III lehrt ferner, daß die Isosäuren weniger geeignet sind als die Normalsäuren, während in dem Verhalten der gesättigten und ungesättigten Säuren kein wesentlicher Unterschied bemerkbar ist. Bei der Ameisensäure findet bekanntlich Autokatalyse statt; das Enzym wird von der Säure stark geschädigt und ist ohne Einfluß auf die Synthese.

[1]) In diesem Falle ist andauerndes Schütteln notwendig, da Alkohol und Säure keine homogene Mischung geben.

Tabelle III.

Vergleich der Säuren.

Je 0,1 g entölter Chelidoniumsamen, 0,3 ccm Isobutylalkohol und entsprechende, ca. $^1/_2$ äquivalente Mengen Säure — d. h. die Hälfte der berechneten Menge — werden gemischt und tagsüber 3 bis 4 stündlich in gleicher Weise (siehe Tabelle I) umgeschüttelt. Temperatur 39°.

	Namen der Säure	Menge	Gebund. Säure nach Stunden				Erreichtes Maximum	
			18	72	120	288		
		g	%	%	%	%	%	
Säuren vom Typus R.CH$_2$COOH	Essigsäure	0,120	3,3	—	—	6,0	6,0	Gesättigte Normalsäuren
	Propionsäure	0,148	4,5	7,0	14,0	14,7	14,7	
	Buttersäure	0,176	20,0	53,6	—	85,3	85,3	
	Valeriansäure	0,204	36,0	54,8	—	82,9	82,9	
	Capronsäure	0,232	48,5	—	86,2	86,7	86,7	
	Heptylsäure	0,260	88,8	—	90,0	—	90,0	
	Caprilsäure	0,288	90,0	—	—	90,5	90,5	
	Nouylsäure	0,316	91,0	—	—	90,0	91,0	
	Caprinsäure	0,340	88,6	—	—	90,0	90,0	
	Laurinsäure	0,400	92,1	—	—	90,7	92,0	
	Isobuttersäure	0,176	9,1	19,0	—	44,0	44,0	Gesättigte Isosäuren
	Isovalerinsäure	0,204	2,0	8,0	—	18,6	18,6	
	Isobutylessigsäure	0,232	22,9	—	71,7	72,8	72,8	
	Isoamylessigsäure	0,260	5,5	—	9,3	—	9,3	
	Erucasäure	0,677	67,5	—	—	84,0	84,0	Ungesättigte Säuren
	Ölsäure	0,565	90,0	—	—	91,4	91,4	
	Elaidinsäure	0,565	88,6	—	—	90,0	90,0	
	Undecylensäure	0,368	89,0	—	—	88,6	89,0	
	Lävulinsäure	0,232	0	—	—	0	0	Diverse Säuren
	Citronensäure	0,420	0	—	0	—	0	
	Phenylessigsäure	0,272	0	—	0	—	0	
Typus R.CH.COOH	Isobuttersäure	0,176	9,1	19,0	—	44,0	44,0	
	Oxypropionsäure	0,182	0	—	0	—	0	
	Crotonsäure	0,172	0	—	0	—	0	
	Zimtsäure	0,296	0	—	0	—	0	
Typus R$_2$.C.COOH	Benzoesäure	0,244	1,6	—	5,0	—	5,0	
	Tiglinsäure	0,200	0	—	0	—	0	
	Angelikasäure	0,200	0	—	0	—	0	

Aus Tabelle IV ist die Geschwindigkeit zu entnehmen, mit der bei den verschiedenen Fettsäuren die Esterbildung erfolgt. Es ist ohne weiteres ersichtlich, daß bis zur Caprylsäure die Geschwindigkeit ständig zunimmt mit steigendem Kohlenstoffgehalt der Säure. Bei der Essig- und Propionsäure ist die geringe Esterbildung erklärlich durch die starke Schädigung, die das Enzym durch sie erleidet. Im großen und ganzen sind anfänglich die Mengen des gebildeten Esters direkt propor-

tional den Zeiten; jedoch dürfte es schwer fallen, theoretisch eine Formel abzuleiten, der sich die Vorgänge genau anpassen. Daher wurden die Geschwindigkeiten, mit der die Esterifizierung der einzelnen Säuren erfolgt, durch Zahlen ausgedrückt, die rein empirisch in folgender Weise gefunden worden waren. Durch Interpolation wurden zunächst die Zeiten bestimmt, in denen 5, 10, 20, 30, 40 und 50% der Säure gebunden worden waren. Die arithmetischen Mittel dieser Zeiten ergaben Zahlen, die sich umgekehrt wie die durchschnittlichen Esterifizierungsgeschwindigkeiten der einzelnen Säuren verhalten. Setzt man die Geschwindigkeit einer Säure gleich irgendeiner willkürlich zu wählenden Zahl, so findet man durch einfache Umrechnung die entsprechenden Geschwindigkeiten als Funktionen dieser Zahl für alle übrigen Säuren. Als Ausgangszahl setzte ich nun die Geschwindigkeitskonstante der Heptylsäure gleich 0,770 und berechnete daraus die in der Tabelle angegebenen Konstanten für die übrigen Säuren. Die Zahl 0,770 ist gleich der Geschwindigkeitskonstanten, die Goldschmidt[1]) bei der mit Salzsäure als Katalysator erfolgenden Esterbildung aus Heptylsäure und Isobutylalkohol gefunden hat. Auf diese Weise können meine empirisch gefundenen, für die enzymatische Estersynthese geltenden Geschwindigkeitskonstanten direkt mit den Geschwindigkeitskonstanten verglichen werden, die für die mittels eines anorganischen Katalysators bewirkte Synthese desselben Esters berechnet wurden. Dabei tritt deutlich der große Unterschied in dem Verhalten der einzelnen Säuren bei der enzymatischen und der nichtenzymatischen Synthese zutage. Während in unserem Falle die Esterifizierungsgeschwindigkeit der verschiedenen Säuren mit steigendem C-Gehalt ganz beträchtlich zunimmt (die Konstante der Caprylsäure z. B. ist 20mal so groß wie die der Buttersäure), nehmen die Goldschmidtschen Konstanten mit steigendem C-Gehalt bis zur Buttersäure ab und zeigen von hier bis zur Nouylsäure nur geringere Abweichungen. Ob dieser Unterschied zwischen enzymatischer und nichtenzymatischer Estersynthese auch bestehen würde, wenn die starke Schädigung des Enzyms durch die Säuren aufgehoben wäre, ist bis jetzt noch nicht entschieden. Immerhin ist auch dann eine Differenz zwischen

[1]) Zeitschr. f. Elektrochemie 17, 684.

den beiden Synthesen wahrscheinlich, da sich dieselbe, wenn auch in weniger starkem Maße, in dem angeführten Versuche auch bei den höheren Fettsäuren zeigt, die die Wirksamkeit des Enzyms in der kurzen Zeit doch kaum beeinträchtigen. (Der das Enzym schädigende Einfluß der Säure nimmt um so mehr zu, je größer ihre Löslichkeit in Wasser ist.) Auch würde diese Annahme mit der von Goldschmidt[1]) aufgestellten Theorie der Esterbildung nicht in Widerspruch stehen. Nach Goldschmidt ist die Geschwindigkeit der Esterbildung mittels Katalysator proportional 1. der Konzentration eines kationischen Komplexes aus H-Ionen des Katalysators und dem Alkoholmolekel, 2. der Konzentration eines Komplexes des nicht dissoziierten Säurekatalysators und des Alkohols. In unserem Falle, wo ein Enzym der Katalysator ist, würde mit Punkt 1 ein für die Katalyse wesentlicher Faktor wegfallen, ein Umstand, der für die Erklärung des verschiedenen Verhaltens der mit Enzym und der mit einem anorganischen Katalysator erfolgenden Estersynthese vielleicht in Betracht kommt.

Tabelle IV.

Vergleich der Fettsäuren unter Beobachtung der Geschwindigkeit, mit der sie Ester des Isobutylalkohols bilden.

Je 0,1 g entölter Chelidoniumsamen, 0,3 ccm Isobutylalkohol und $^1/_2$ äquivalente Mengen Säure (wie in Tabelle III) werden gemischt und tagsüber in gleicher Weise umgeschüttelt. Temperatur 20°.

Namen der Säure	Gebundene Säure nach Stunden									α	β
	1	2	4	8	16	24	32	48	96		
	%	%	%	%	%	%	%	%	%		
Essigsäure	—	—	3,0	—	3,3	—	—	—	6,0	—	—
Propionsäure	—	—	—	3,0	4,2	—	—	7,0	14,7	—	—
Buttersäure	—	—	3,0	6,7	15,5	33,6	47,8	59,9	—	0,064	0,764
Valeriansäure	—	3,5	7,0	14,7	28,2	39,8	60,8	73,2	—	0,087	0,776
Capronsäure	3,0	6,5	12,2	24,5	45,2	66,5	74,5	78,1	—	0,145	0,781
Heptylsäure	15,4	31,1	63,5	84,1	90,0	—	—	—	—	0,770	0,770
Caprylsäure	28,2	46,9	71,7	86,0	—	—	—	—	—	1,262	0,796
Nonylsäure	15,1	30,0	69,9	83,1	—	—	—	—	—	0,785	0,776
Ölsäure	19,1	41,3	76,0	83,4	—	—	—	—	—	1,000	0,762

Unter α stehen die aus der Tabelle sich ergebenden, empirisch gefundenen Geschwindigkeitskonstanten. (Nähere Erklärung siehe Text S. 154.) Unter β stehen die von Goldschmidt (Zeitschr. f. Elektrochemie 17, 684) berechneten Esterifizierungskonstanten, die für die Esterbildung mittels Salzsäure als Katalysator gelten.

[1]) Zeitschr. f. Elektrochemie 17, 684.

6. Enzymatische Darstellung von Estern des Glycerins und einwertiger Alkohole.

a) Monoolein.

Bei der Synthese aus Glycerin und Ölsäure mittels Chelidoniumlipase bildet sich stets Triolein neben Monoolein, vielleicht auch Diolein. Allmählich wird das letztere in Triolein übergeführt, so daß reines Triolein auf enzymatischem Wege leicht gewonnen werden kann[1]). Schwieriger und im kleinen kaum durchführbar ist die Darstellung von Monoolein, da bei kurzer Reaktionsdauer zu wenig Ester überhaupt, bei längerer Dauer zu viel Tri- bzw. Diolein gebildet wird und das Gemisch der Oleine sehr schwer zu trennen ist. Nach vielen Versuchen gelang es, einen bei 26° schmelzenden weißen krystallinischen Körper — Verseifungszahl 157,9 — zu isolieren. Der Schmelzpunkt konnte auch durch mehrmaliges Umkrystallisieren aus 70%igem Alkohol nicht erhöht werden und ist höher als der von Guth[2]) gefundene (0°), aber niedriger als der zuletzt von Krafft[3]) für Monoolein festgestellte Schmelzpunkt (35°). Da die Verseifungszahl unseres Körpers mit der für Monoolein berechneten (157,2) nahezu übereinstimmte und da derselbe optisch nicht aktiv ist, so ist anzunehmen, daß das bis jetzt noch nicht dargestellte β-Monoolein $C_3H_5\overset{OH}{\underset{OH}{O}} . C_{18}H_{33}O$ vorlag.

Zur Darstellung wurden je 10 g Ölsäure, 10 g Glycerin mit 5% Wasserzusatz, 1 g entölter Chelidoniumsamen bei 35° 15 Stunden lang andauernd geschüttelt. Das Reaktionsprodukt wurde durch Extraktion mit Äther gewonnen und durch Behandlung mit Na_2CO_3-Lösung (3%ig) von der freien Säure befreit. Aus dem erhaltenen dickflüssigen Öl schied sich beim Lösen in Alkohol die Hauptmenge des Trioleins ab, eine weitere Trennung der Oleine erfolgte durch Zugabe von Wasser in geringen Mengen in der Kälte. Das Monoolein selbst schied sich bei — 5° bis — 10° aus dem verdünnten Alkohol in Plättchen aus und wurde durch öfteres Umkrystallisieren in 70%igem Alkohol bei — 5% gereinigt.

b) Heptylsäure-Isobutylester.

Für die Darstellung von Estern höherer Säuren und Alkohole in größerem Maßstabe eignet sich das enzymatische Ver-

---

[1]) Vgl. auch Jalander, diese Zeitschr. 36, 475 und Krauß, Zeitschr. f. angew. Chem. 24, 829.

[2]) Zeitschr. f. Biol. 44, N. F. 26, 90.

[3]) Biol. Ber. 36, 4341, 1903.

fahren, vorausgesetzt, daß die Substrate das Enzym nicht allzu sehr schädigen und daß zwischen den Alkoholen und Säuren überhaupt Neigung zur Esterbildung besteht. Das Verfahren, nach dem beispielsweise der Heptylsäure-Isobutylester dargestellt wurde, hat den Vorteil, sehr einfach, ohne Wärme anwendbar zu sein und gute Ausbeuten zu liefern.

10 g Heptylsäure, 11 g Isobutylalkohol, 2 g entölter Chelidoniumsamen wurden bei 20° unter öfterem Umherschütteln stehen gelassen, nach 24 Stunden nochmals mit 1 g Chelidoniumsamen versetzt und nach 3 Tagen abfiltriert. Es waren 86,7% der freien Säure gebunden. Der Ester wurde durch Behandlung mit fein gepulvertem $Ba(OH)_2$[1]) gereinigt und bei 12 mm Druck destilliert.

Ausbeute: 7,0 g reiner Ester (60% Ausbeute).
Spez. Gewicht: 0,8593 bei 20°.
Siedepunkt: 209° bei 759 mm Druck, 20°.
" : 95 bis 97° bei 12 mm Druck, 20°.
0,1301 g Substanz: 0,3400 g CO_2, 0,1460 g H_2O.
$C_{11}H_{22}O_2$: Ber.: C = 71,27%, H = 11,98%.
Gef.: C = 71,27%, H = 12,55%.

[1]) Diese Zeitschr. 52, 202, 1913.

Untersuchungen über qualitativ unzureichende Ernährung.

Von

S. Oseki (Fukuoka).

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 2. Juni 1914.)

Vorbemerkungen.

Die nachstehend mitgeteilten Untersuchungen schließen sich an die im hiesigen Institut vor 5 Jahren begonnenen, dann an anderem Orte weitergeführten Versuche von W. Stepp über Ernährung mit lipoidfreier Nahrung an.

In der ersten orientierenden Arbeit Stepps[1]) hatte sich ergeben, daß Milchbrot für weiße Mäuse auch bei langdauernder Fütterung eine vollkommen zureichende Nahrung darstellt, nicht aber, wenn dem Milchbrot die in Alkohol und Äther löslichen Bestandteile — also Stoffe, die unter den Begriff „Lipoide" fallen — vorher entzogen wurden. In einer weiteren Arbeit konnte Stepp[2]) an Weizenmilchbrot und Milchprotamol — einem Nahrungsmittel, das aus Milch und Protamol, d. h. einem aus Reiskorn mit Ammoniak, Ammoniumcarbonat und Milchsäure in bestimmter Weise dargestellten eiweißreichen Mehl bereitet war — den genauen Nachweis führen, daß die Insuffizienz der mit Alkohol und Äther extrahierten Nahrung nicht durch den Mangel an Aschenbestandteilen und auch nicht durch den Mangel an Neutralfetten bedingt war. Er fand vielmehr, daß es möglich war, das Fehlen der unbekannten extrahierten Stoffe durch lipoidreiche Zusätze, Eidotter, Alkohol- und Ätherextrakte aus Eidotter, aus Kalbshirn und aus Magermilch zum Teil oder ganz auszugleichen. In einer weiteren Versuchsreihe stellte dann Stepp die wichtige Tatsache fest,

[1]) Stepp, diese Zeitschr. 22, 452, 1909.

[2]) Stepp, Zeitschr. f. Biol. 57, 135, 1911.

daß Milchprotamol und Milchbrot, die an sich eine ausreichende Nahrung für weiße Mäuse darstellen, durch 48stündiges Erhitzen mit Alkohol oder Wasser so verändert werden, daß sie zur Ernährung nicht mehr genügen. Ebenso verloren die Alkohol- und Ätherextrakte aus Eigelb und Kalbshirn bei dieser Behandlung ihre Fähigkeit, bei Zufügung zu einer durch Extraktion oder Erhitzen unzureichend gemachten Nahrung diese wieder vollwertig zu machen.

Diese Befunde stehen in gutem Einklang mit den Erfahrungen, die einerseits Osborne und Mendel[1]), andererseits Hopkins[2]) betreffs des Einflusses der Kost auf das Wachstum junger Ratten gemacht haben. Hier hat sich ergeben, daß eine künstlich aus reinen Eiweißkörpern, Fetten, Kohlenhydraten, Wasser und Salzen zusammengesetzte Nahrung zum Stillstand des Wachstums führt, daß aber ein geringer Zusatz von Milch oder von aus Milch bereiteten Präparaten das Wachstum wieder herstellen kann.

Über die chemische Natur der Stoffe, die trotz der geringen Menge, in der sie vorhanden sind, eine so wichtige Rolle spielen, liegen wenige Angaben vor. Stepp faßte sie auf Grund ihrer Löslichkeit in Alkohol oder Äther als Lipoide auf, auch die durch seine Versuche[3]) festgestellte Zerstörbarkeit durch anhaltendes Erhitzen konnte mit dieser Deutung in Einklang gebracht werden. Doch handelt es sich dabei, wie Stepp durch spezielle Versuche zeigte, nicht um Lecithin, Cholesterin oder echte Fette. Mac Collum und Davis[4]) wiesen dagegen darauf hin, daß es sich in Stepps Versuchen um ähnliche Stoffe handeln könne wie jene, deren Mangel die Erkrankung an Beri-Beri bedingt. Diese Stoffe hat Casimir Funk als Vitamine bezeichnet und man könnte diesen Namen auch für die lipoiden Nährfaktoren Stepps anwenden, wenn nicht Funk ausdrücklich die Vitamine als stickstoffhaltige, durch gewisse

---

[1]) Osborne, Mendel und Ferry, Journ. of Biolog. Chem. **12**, 81, 1912; **13**, 233, 1912; **15**, 311, 1913; Zeitschr. f. physiol. Chem. **80**, 307, 1912.

[2]) Hopkins, Journ. of Physiol. **49**, 425, 1912. — Hopkins und Neville, Biochem. Journ. **7**, 97, 1913.

[3]) Stepp, Zeitschr. f. Biol. **59**, 366, 1912.

[4]) Mac Collum und Davis, Journ. of Biolog. Chem. **15**, 167, 1913.

Fällungsmittel abscheidbare, krystallisierende Körper bezeichnet hätte[1]). Denn daß die lebenswichtigen „Lipoide“ Stepps diesen chemischen Charakter besitzen, ist vorläufig nicht bewiesen. Es dürfte sich daher empfehlen, um der Zukunft nicht vorzugreifen, für die Gesamtheit derjenigen unbekannten organischen Nährstoffe, die nicht Eiweiß-, Fett- oder Kohlenhydratcharakter haben und trotz der minimalen Menge, in der sie in der Nahrung auftreten, für Wachstum und Erhaltung des Lebens unentbehrlich sind, einen nicht weiter präjudizierenden Gruppennamen zu wählen. Als solchen hat mir Herr Prof. Hofmeister die Bezeichnung „akzessorische Nährstoffe“ vorgeschlagen.

Es war nicht Aufgabe der nachstehenden von Prof. Hofmeister angeregten Untersuchung, die chemische Natur solcher akzessorischen Nährstoffe festzustellen, sondern zunächst einen weiteren Überblick über ihre Verbreitung in den Nahrungsmitteln zu gewinnen, wobei naturgemäß die für den Menschen wichtigen Nahrungsmittel in den Vordergrund traten. Stepp hat mit Milchbrot und Milchprotamol gearbeitet und die unentbehrlichen akzessorischen Nährstoffe in der Milch gefunden. Auch Osborne und Mendel sowie Hopkins haben diese Nährfaktoren so gut wie ausschließlich in der Milch gesucht. Demgegenüber habe ich mein Augenmerk in erster Linie auf Brot und Brotfrüchte gerichtet; in zweiter Linie habe ich auf Grund des neugewonnenen Versuchsmaterials untersucht, inwieweit es bei diesem möglich ist, eine unzureichende Kost durch passende Zusätze vollwertig zu machen.

Die Versuchsanordnung schloß sich der von Stepp eingehaltenen an. Die Versuchstiere wurden stets in Einzelkäfigen gehalten. Die Herkunft und Bereitung der Nahrung ist aus den anzuführenden Tabellen ersichtlich. Als Zusatz von anorganischen Stoffen diente, wo das nötig schien, teils Röhmanns Salzmischung (10 g Tricalciumphosphat, 37 g Dikaliumhydrophosphat, 20 g Natriumchlorid, 15 g Natriumcitrat, 8 g Magnesiumcitrat, 8 g Calciumlactat, 2 g Ferrilactat), teils die Asche aus den zugehörigen Extrakten, oder auch die Asche aus kleienreichen Mehlen (Futtermehlen des Handels). Das Gewicht der Zusätze ist in Prozenten des Trockengewichts der Hauptnahrung angegeben.

[1]) Funk, Die Vitamine. Wiesbaden 1914, S. 3.

Die Versuchstiere wurden zum mindesten alle 2 bis 3 Tage gewogen. Im nachfolgenden ist bloß Anfangs- und Endgewicht angegeben. Die Tiere verloren, soweit sie nicht überlebten, bis zum Tode durchschnittlich $^1/_3$ ihres Gewichts. Die Gewichtskurven selbst bieten kein besonderes Interesse. Bei unzulänglicher Nahrung war die Abnahme in den ersten Tagen geringer als später; als Beispiel sei folgender Versuch angeführt:

Versuch 1.

Weizenbrot, aus feinem Weizenmehl ohne Milchzusatz mit Backpulver gebacken. Zusatz: 1% Röhmanns Salzmischung.

Nummer des Tieres	Gewicht am Versuchstag:													
	1. g	3. g	5. g	7. g	9. g	11. g	13. g	15. g	17. g	19. g	21. g	23. g	25. g	27. g
1	16,4	17,1	16,8	16,8	16,7	16,0	15,8	15,3	14,7	14,9	14,5	14,2	13,2	13,1 †
2	15,5	15,4	14,8	14,2	13,7	13,2	13,0	12,6	11,7	12,5	12,0	11,0	10,6	10,3 †
3	16,0	16,7	16,1	15,3	14,7	14,2	13,0	13,0	13,1	12,3	11,2 †			
4	15,0	15,9	15,1	14,7	14,1	13,5	12,9	12,7	11,8	11,5	11,2	11,0	9,5 †	
5	18,1	17,8	17,5	16,1	13,5	13,4	13,1	12,3	12,0	11,7	11,4 †			
6	17,3	17,5	17,1	16,7	15,3	14,4	13,2	11,1	10,7 †					

Es ergab sich bald, daß zur Prüfung der Nährleistung einer bestimmten Kost, wenn sie an der Lebensdauer gemessen wird, die Verwendung von 2 oder 3 Tieren genügt. Trotz der nicht zu vermeidenden individuellen Schwankungen ergaben sich für die verschiedenen Kostsätze unerwartet naheliegende Zahlen.

Über das Verhalten der Mäuse während der Versuchszeit sei folgendes bemerkt: Die Mäuse fraßen anfangs mit großer Gier, erst im weiteren Verlauf der Fütterung nahm die Freßlust ab, vollständig verweigert wurde die Nahrung jedoch erst kurz vor dem Tode. Die Tiere bekamen gewöhnlich nach einiger Zeit ein struppiges Aussehen, und die Haare verloren den Glanz. Einige Tage vor dem Tode nahmen die Tiere oft eine kauernde Stellung ein, zuweilen beobachtete man andauerndes Zittern des Kopfes, ev. auch der Extremitäten bei Bewegungen, wohl eine Erscheinung allgemeiner Schwäche. Sonst boten die Tiere kein charakteristisches Krankheitsbild. Der Sektionsbefund ergab makroskopisch starke Reduktion des Fettgewebes an allen Körperteilen, sonst keine pathologische

Veränderung; speziell fand sich bei der Untersuchung nach Marchi keine Degeneration an den Nerven der Extremitäten.

Versuche.

A. In erster Reihe seien Versuche angeführt, die sich auf Brot- und Mehlarten schlechtweg, d. h. ohne vorgängige Extraktion und ohne Zusätze, beziehen.

Tabelle I.

Prot.-Nr.	Nahrung	Bereitung der Nahrung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
55	Roggenbrot	Aus Roggenmehl unter Salzzusatz hergestellt und mit Backpulver verbacken.	1 2 3	Vers. am 67. Tage abgebrochen. Tiere gesund.	17,9 16,0 17,3	18,4 16,9 16,8
35	Kommißbrot	Straßburger Soldatenbrot. Nach Auskunft des Proviantamtes aus Roggenmehl mit 15 % Kleienauszug und Salz bereitet. Als Streumehl 10 % Weizenmehl, als Gärungsmittel Sauerteig.	1 2 3	Vers. am 63. Tage abgebrochen. Tiere gesund.	11,9 15,9 12,0	17,3 16,6 16,8
1	Weizenbrot	Feinstes Weizenmehl wird nach Zusatz von etwas Kochsalz mit Backpulver zu Brot verbacken; die Krume wird nach Entfernung der Rinde in Scheiben geschnitten und bei ca. 40° getrocknet und zermahlen.	1 2 3 4 5 6	Tod am 27. Tage " " 27. " " " 21. " " " 25. " " " 21. " " " 17. " [1]	16,4 15,5 16,0 15,0 18,1 17,3	13,1 10,3 11,2 9,5 11,4 10,7
59	Gerstenmehl	Das Mehl wurde mit Wasser unter Zusatz von 1,5 % Röhmanns Salzmischung zum Brei angerührt, dieser getrocknet und zermahlen.	1 2	Tod am 19. Tage " " 24. "	14,0 17,2	11,0 12,1
54	Hafermehl (Knorr)	Wie 59.	1 2 3 4 5	Tod am 33. Tage " " 37. " " " 50. " " " 33. " Überlebt den 60. Tag	17,5 16,8 19,0 14,5 19,8	15,3 12,8 13,7 9,2 14,3
56	Maismehl	Wie 59.	1 2	Tiere überleben den 60. Tag	15,9 15,5	12,8 11,7
57	Erbsenmehl	Wie 59.	1 2	Tod am 33. Tage " " 32. "	15,0 12,9	13,7 12,7
58	Bohnenmehl	Wie 59.	1 2	Tod am 21. Tage " " 19. "	17,0 16,5	12,1 10,0

[1] Mittlere Lebensdauer 23 Tage.

Wie aus Tabelle I ersichtlich, ist Roggenbrot und Kommißbrot für weiße Mäuse eine vorzügliche Nahrung. Die Tiere blieben dabei über 9 Wochen völlig normal und nahmen zum Teil sogar an Gewicht zu. Ob das Brot mit Sauerteig bereitet ist (Kommißbrot) oder nicht (Versuch 55), spielt dabei keine Rolle.

Demgegenüber fällt die ungünstige Nährleistung des Weizenbrotes aus feinem Weizenmehl sehr auf. Der Unterschied ist so groß, daß man geneigt sein könnte, an einen Irrtum zu glauben; indessen haben die unten anzuführenden Versuche, wo dem Weizenbrot verschiedene Zusätze gemacht wurden, diesen Befund immer wieder bestätigt. Es ist bemerkenswert, daß schon Erfahrungen vorliegen, denen zufolge einseitige Ernährung mit feinem Weizenmehl zu beri-beriähnlichen Erkrankungen beim Menschen geführt hat, während ähnliche Angaben über Roggenbroternährung nicht zu finden sind[1]).

Von Interesse ist die günstige Nährwirkung des Maismehls. Ihm steht Hafermehl und Erbsenmehl am nächsten, wogegen die Ergebnisse mit Gersten- und Bohnenmehl sehr abfallen. Beim Erbsenmehl ist an eine toxische Nebenwirkung zu denken. Die geringe Gewichtsabnahme am Todestage spricht dafür, daß hier besondere Umstände mitwirken.

B. Die Versuche von Stepp haben ergeben, daß die Extraktion des mit Milch hergestellten Weizenbrotes und Protamols die Nährleistung außerordentlich herabsetzt. Die Ursache dieser Erscheinung hat Stepp in dem Milchzusatz gesucht und in der Tat gefunden, daß nachträglicher Zusatz von Milch- und Magermilchextrakt diesen Mangel auszugleichen imstande ist. Nach obigen Versuchen steht das ohne Milchzusatz bereitete Roggen- und Kommißbrot dem Milchbrot und Milchprotamol Stepps nicht nach. Die akzessorischen lebenswichtigen Stoffe können hiernach nicht der Milch ausschließlich zukommen. Es könnte sich sogar bei Milch- und Roggenbrot um dieselben Bestandteile handeln. Es war daher von Interesse zu untersuchen, ob sie sich dem Brot durch Extraktion mit Alkohol und Äther in ähnlicher Weise entziehen lassen, wie das beim Weizenmilchbrot gelingt.

---

[1]) Little, Journ. of the Amer. med. Assoc. 58, 2029, 1911.

Tabelle II.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
45	Kommißbrot, extrahiert mit Wasser	Bei 40° getrocknete fein zermahlene Krume wird 4 bis 5 mal mit dem 5 fachen Gewicht dest. Wassers nach Zusatz einiger Tropfen Chloroform einige Stunden auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Der ungelöste Teil wird durch Zentrifugieren abgetrennt und getrocknet.	1 2 3	Tod am 22. Tage " " 16. " " " 25. "	17,8 17,9 19,9	13,0 13,1 14,1
47	Kommißbrot, extrahiert mit Wasser + 5% Wasserextrakt aus Kommißbrot	Dem in Vers. 45 verwendeten Brotpräparat wird der beim Schütteln gewonnene wässerige Auszug nach Eintrocknen in flachen Schalen zugesetzt. Das Eintrocknen geschah in einem warmen Luftstrom.	1 2 3	Überlebt d. 63. Tag[1] Tod am 53. Tage Überlebt d. 60. Tag	16,3 21,4 16,6	14,8 14,2 15,1
46	Kommißbrot, extrahiert mit Wasser + 3% Asche des Wasserextraktes	Dem wie in Vers. 45 dargestellten Brotpräparat wird die Asche des Wasserextrakts (Vers. 47) zugefügt.	1 2 3 4	Tod am 41. Tage " " 27. " " " 42. " " " 40. "	18,4 17,0 13,5 14,2	11,4 12,0 10,2 10,0
36	Kommißbrot, extrahiert mit Alkohol und Äther	Die bei 40° getrocknete fein zermahlene Krume wird 24 Std. auf dem Wasserbad bei 40 bis 60° mit 95%igem Alkohol digeriert, heiß abfiltriert, die Prozedur mit dem Rückstand noch 3 mal mit absol. Alkohol wiederholt. Der Rückstand wird nach Abfiltrieren und Trocknen 48 Std. lang in einem großen Soxhletapparat mit Äther extrahiert, dann zur Entfernung d. Äthers nochmals mit Wasser zu einem Brei angerührt, getrocknet und gemahlen.	1 2 3	Tiere am 60. Tage gesund	19,2 19,6 18,0	20,3 18,2 18,8
37	Kommißbrot, extrahiert mit Alkohol, Äther und Chloroform	Das wie in Vers. 36 mit Alkohol und Äther erschöpfte Brot wird 30 Std. im Soxhletapparat mit Chloroform extrahiert, dann nochmals zur Entfernung des Chloroforms mit Äther, dann zur Entfernung des Äthers mit Wasser behandelt.	1 2 3	Überleben den 61. Tag Tod am 40. Tage	21,5 21,7 18,9	15,7 18,1 13,5
38	Kommißbrot, mit Alkohol, Äther, Chloroform und Benzol extrahiert	Verfahren wie in Vers. 37, nur folgt auf die Chloroformextraktion noch eine 30stünd. Benzolextraktion im Soxhletapparat. Entfernung des Benzols durch Äther, des Äthers durch Wasser.	1 2 3	Tod am 33. Tage " " 41. " " " 51. "	15,6 12,8 18,8	11,2 10,0 13,7

[1]) d. h.: Der Versuch wurde am 63. Tage bei Leben des Tieres abgebrochen. In gleichem Sinne ist der Ausdruck „überleben" auch sonst in den Tabellen zu verstehen.

Tabelle II (Fortsetzung).

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
2	Weizenbrot, mit Alkohol und Äther extrahiert	Weizenbrot wie oben (Tab. I, Vers. 1) hergestellt, nach Entfernung der Rinde bei ca. 40° getrocknet, gemahlen, 24 Std. auf dem Wasserbad bei 40 bis 60° digeriert, heiß abfiltriert, die Prozedur 3 mal mit absol. Alkohol je 20 bis 24 Std. wiederholt. Dann mit Äther 48 Std. im großen Soxhletapparat extrahiert. Rückstand wird getrocknet, mit Wasser vom Äther befreit, wieder getrocknet und unter Salzzusatz vermahlen.	1	Tod am 19. Tage	21,0	15,1
			2	„ „ 17. „	19,5	13,5
			3	„ „ 17. „	15,9	14,3
			4	„ „ 20. „	15,6	10,9
			5	„ „ 20. „ [1]	18,1	11,4

Wie aus dieser Zusammenstellung ersichtlich, büßt Kommißbrot durch Wasserextraktion seine hervorragende Nährwirkung soweit ein, daß es dem Weizenbrot etwa gleichkommt. Doch handelt es sich dabei zu einem erheblichen Teil um den Verlust an mineralischen Bestandteilen, da die Leistung des extrahierten Roggenbrotes durch Zusatz der aus der Asche des Extrakts gewonnenen Salze sehr erheblich verbessert wird (Versuch 46). Daß dies nicht vollständig gelingt, geht nicht bloß daraus hervor, daß die Tiere sämtlich, wenngleich später als sonst, verenden, sondern auch aus dem erheblichen Gewichtsverlust. Sehr wirksam dagegen erweist sich die Rückerstattung der gesamten mit Wasser entzogenen Stoffe (Versuch 47). Andererseits zeigt Versuch 36, daß die Extraktion mit Alkohol und Äther, die in den Versuchen Stepps die Nährleistung von Milchbrot so tiefgehend herabsetzte, beim Kommißbrot keine merkliche Wirkung hat. Eine weitere Extraktion mit Chloroform und Benzol setzt allerdings die Nährleistung herab, doch muß zunächst dahingestellt bleiben, ob das in der Tat durch Entziehung lebenswichtiger Lipoide zustande kommt. Namentlich ist fraglich, ob nicht die Behandlung mit Chloroform an sich, wie schon Stepp vermutet, eine ungünstige Veränderung des Futters veranlaßt.

Die Nährleistung des ohne Hefe und Milch hergestellten Weizenbrotes erfährt durch Extraktion mit Alkohol und Äther eine geringe, nicht sehr erhebliche Verschlechterung. Dies be-

[1]) Mittlere Lebensdauer 18,6 Tage.

stätigt die Beobachtung Stepps, daß die starke Abnahme der Nährleistung, die das mit Milch bereitete Weizenbrot durch Extraktion erfährt, in der Tat auf einen Verlust von Milchbestandteilen zu beziehen ist.

C. Versuche mit Zusätzen zu Weizenbrot.

Die ungünstige Nährleistung des Weizenbrots läßt sich durch verschiedene Zusätze ergänzen. Diese Versuche wurden der Vollständigkeit wegen auch mit dem Weizenbrot ausgeführt, das der Alkohol- und Ätherextraktion unterworfen worden war.

a) Zusätze, die eine mehr als 60tägige Lebensdauer ermöglichen.

Tabelle III.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
66	Milchbrot aus Weizenmehl	300 g feinstes Weizenmehl mit 1 l Vollmilch angerührt und mit Backpulver gebacken.	1 2	Tiere am 60. Tage gesund	17,7 20,0	21,0 16,0
67	Milchbrot aus Weizenmehl, mit Alkohol u. Äther extrah. + 1 % Röhmanns Salzmischung	Wie in Vers. 66, dann Extraktion wie in Versuch 2 (Tab. II).	1 2	Tod am 33. Tage " " 25. "	14,4 21,8	9,7 12,4
50	Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Magermilch + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie in Vers. 1 (Tab. I). Magermilch (käufliches pulverförmiges Präparat) wird bei 40° getrocknet, dann 4 mal mit 95 %igem Alkohol bei 40 bis 60° je 24 Std. ausgezogen. Die vereinigten Extrakte bei 40° von Alkohol befreit, der Rückstand auf der Schüttelmaschine mit Äther erschöpft, der in Äther unlösl. Teil durch Lösen in 95 %igem Alkohol b. 50° von Verunreinigungen getrennt, dann getrocknet.	1 2	Überleben den 60. Tag	18,2 17,4	15,0 14,0
44	Weizenbrot + 5 % Wasserextrakt aus Kommißbrot	Darstellung des Wasserextrakts s. Tab. II, Vers. 45 und 47.	1 2	Überleben den 60. Tag	17,9 19,6	17,7 15,4
30	Weizenbrot + 25 % Roggenfuttermehl	Weizenmehl und 25 % käufliches Roggenfuttermehl mit Backpulver gebacken.	1 2	Überleben den 60. Tag	18,8 20,8	19,2 16,5

Tabelle III (Fortsetzung).

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	End-gewicht g
29	Extrahiertes Weizenbrot + 20 %Roggenfuttermehl	Weizenbrot mit Alkohol und Äther extrahiert (Vers. 2, Tab. II), mit Zusatz von Rogenfuttermehl.	1 2	Überleben den 71. Tag	21,2 15,6	18,5 13,8
32	Weizenbrot + 20 %Weizenfuttermehl	Weizenmehl und 20 % käufliches Weizenfuttermehl mit Backpulver gebacken.	1 2	Überlebt d. 70. Tag " " 61. " [1]	20,8 14,2	19,3 12,1
31	Weizenbrot + 25 %Roggenfuttermehl, nachträglich extrahiert	Weizenmehl und 25 % Roggenfuttermehl, gebacken wie in Vers. 30. Dann mit Alkohol und Äther behandelt wie Weizenbrot in Vers. 2.	1 2	Überleben den 60. Tag	16,5 18,5	12,8 16,0
33	Weizenbrot + 25 %Weizenfuttermehl, nachträglich extrahiert	Wie Vers. 31, nur unter Verwendung von Weizenfuttermehl.	1 2	Überleben den 65. Tag	13,5 17,4	10,7 15,0
34	Extrahiertes Weizenbrot + 10 %Wasserextrakt aus Weizenfuttermehl	Extrahiertes Weizenbrot wie in Vers. 2. Wasserextrakt aus Weizenfuttermehl wie Wasserextrakt aus Kommißbrot (Vers. 45 und 47) bereitet.	1 2	Überleben den 65. Tag	19,2 17,3	19,7 17,9
53	Extrahiertes Weizenbrot + 15 %Preßhefe	Extrahiertes Weizenbrot wie in Vers. 2. Käufliche Preßhefe, getrocknet.	1 2	Überleben den 60. Tag	16,5 18,6	17,0 21,0
52	Weizenbrot + 10 %Preßhefe	Wie Vers. 53.	1 2	Überleben den 60. Tag	16,0 19,7	17,1 22,

Die ersten drei Versuche dieser Reihe mit Milch- und Magermilchextrakt bestätigen die Erfahrungen von Stepp. Neu ist aber, daß auch Roggen- und Weizenfuttermehl, ebenso die wässerigen Auszüge daraus und dementsprechend auch der wässerige Auszug aus Kommißbrot, namentlich aber, daß auch Preßhefe das unzureichende Weizenbrot zu einer vollkommenen Nahrung zu ergänzen vermögen. Dies geht über den Rahmen von Stepps Beobachtungen hinaus und entspricht vielmehr den Erfahrungen, die man über die Heilwirkung des Reiskleie-Extrakte und der Hefe bei der Beri-Beri gemacht hat. Es wäre wichtig zu entscheiden,

[1]) Versuch früher abgebrochen.

ob die in diesem Falle wirksamen akzessorischen lebenswichtigen Stoffe der Preßhefe und Kleie mit den von Stepp in der Milch nachgewiesenen identisch sind. Das Verhalten gegen Extraktionsmittel spricht nicht dafür, da sie sich aus Roggenbrot anscheinend nicht mit Alkohol und Äther extrahieren lassen, doch kann zunächst nicht ganz ausgeschlossen werden, daß dieser Unterschied auf dem Einfluß von Beimengungen oder quantitativen Verschiedenheiten beruht.

b) Minder wirksame Zusätze von vegetabilischen Nahrungsmitteln und Extrakten daraus.

Für die Beurteilung der in den nachstehenden Tabellen angeführten Werte ist vor Augen zu halten, daß die Lebensdauer der Mäuse, die mit ohne Hefe und Milch bereitetem Weizenbrot gefüttert wurden, im Mittel 23, im höchsten Falle 27 Tage betrug, und wenn das Weizenbrot überdies vorher mit Alkohol und Äther extrahiert war, im Mittel 18,6, höchstens 20 Tage. Man darf daher einen Zusatz als lebensverlängernd ansehen, der bei Weizenbrotfütterung die Lebensdauer über 30 Tage, bei Darreichung von extrahiertem Weizenbrot über 25 Tage verlängert.

Tabelle IV.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
41	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Wasserextrakt aus Kommißbrot	Extrahiertes Weizenbrot, vgl. Vers. 2, Tab. I. Wasserextrakt aus Kommißbrot, vgl. Vers. 47, Tab. II.	1 2 3	Überleben den 42. Tag	20,8 15.8 15,5	17,3 12,5 11,0
40	Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Kommißbrot + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot (und extrahiertes Weizenbrot) wie in Vers. 1 (und 2). Darstellung des Alkoholextrakts vgl. Vers. 36, Tab. II. Die vereinigten Extrakte bei niederer Temperatur von Alkohol befreit, der Rückstand durch Ausschütteln mit Äther vom Ätherlöslichen befreit, dann nochmals mit warmem Alkohol aufgenommen, filtriert und bei 40° eingedampft.	1 2	Tod am 42. Tage „ „ 60. „	18,0 17,2	12,5 15,3
39	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Kommißbrot + 2 % Asche von Weizenfuttermehl		1 2	Tod am 32. Tage „ „ 19. „	17,2 15,7	10,7 12,3

Tabelle IV (Fortsetzung).

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangs-gewicht g	End-gewicht g
43	Weizenbrot + 5 % Ätherextrakt aus Kommißbrot + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie Vers. 1. Bereitung des Ätherextrakts: der nach Alkoholerschöpfung verbleibende Rückstand des Kommißbrotes (Vers. 39) wird im Soxhletapparat mit Äther erschöpft und der Auszug mit dem ätherlösl. Teil des Alkoholauszugs vereinigt, nach Einengen nochmals mit Äther aufgenommen, filtriert und bei niederer Temperatur eingetrocknet.	1	Tod am 23. Tage	19,1	13,8
			2	" " 23. "	16,5	11,9
			3	" " 19. "	19,5	11,0
			4	" " 11. "	17,9	13,5
42	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Ätherextrakt aus Kommißbrot + 2 % Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot wie Vers. 2. Ätherextrakt aus Kommißbrot, siehe Vers. 43.	1	Tod am 13. Tage	14,7	10,3
			2	" " 18. "	14,1	11,2
			3	" " 18. "	13,8	10,8
60	Weizenbrot + 20 % Hafermehl + 1,5 % Asche aus Weizenfuttermehl	Weizenbrot wie Vers. 1.	1	Tod am 33. Tage	17,7	11,9
			2	" " 21. "	16,2	12,2
63	Weizenbrot + 20 % Maismehl + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie Vers. 1.	1	Überlebt d. 63. Tag	19,7	13,8
			2	Tod am 48. Tage	16,4	11,1
62	Weizenbrot + 20 % Bohnenmehl + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie Vers. 1.	1	Tod am 44. Tage	14,3	11,6
			2	" " 45. "	13,3	9,5
61	Extrahiertes Weizenbrot + 20 % Bohnenmehl + 1,5 % Asche aus Weizenkleie	Extrahiertes Weizenbrot wie Vers. 2.	1	Tod am 27. Tage	17,2	13,0
			2	" " 31. "	17,3	10,0
65	Weizenbrot + 20 % Gerstenmehl + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie Vers. 1.	1	Tod am 32. Tage	16,9	12,2
			2	" " 41. "	18,5	13,3

Tabelle IV (Fortsetzung).

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
64	Extrahiertes Weizenbrot + 20 % Gerstenmehl + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot wie Vers. 2.	1 2	Tod am 27. Tage „ „ 18. „	14,4 17,2	10,2 12,5
28	Weizenbrot + 5 % Malzextrakt + 1,5 % Asche von Weizenfuttermehl	Weizenbrot wie Vers. 1.	1 2 3 4	Tod am 19. Tage „ „ 21. „ „ „ 28. „ „ „ 25. „	14,3 19,2 16,8 17,9	9,5 11,7 10,3 13,0
27	Extrahiertes Weizenbrot + 7 % Malzextrakt + 1 % Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot wie Vers. 2.	1 2 3	Tod am 12. Tage „ „ 27. „ „ „ 12. „	15,2 16,8 16,5	12,2 11,4 13,1

Von den eben angeführten Versuchen schließt sich Nr. 41 eng dem in der vorigen Tabelle verzeichneten Versuch 44 an. Er lehrt, daß der Wasserextrakt aus Kommißbrot die Nährleistung des mit Alkohol und Äther extrahierten Weizenbrotes ebenso ergänzen kann, wie dies in Versuch 44 mit dem nichtextrahierten Weizenbrot der Fall war. Nur ist die Gewichtsabnahme der Tiere in Versuch 41 auffallend, sie dürfte aber auf die Verwendung extrahierten Weizenbrotes zurückzuführen sein. Die Minderwertigkeit des extrahierten Weizenbrotes gegenüber dem nicht extrahierten geht auch aus einem Vergleich der Versuche 40 und 39, 62 und 61, 65 und 64 hervor, wo trotz gleicher Ergänzungszusätze regelmäßig die mit dem extrahierten Brot genährten Tiere früher verendeten.

Da Maismehl sich als ein relativ günstiges Nahrungsmittel erwiesen hat (Versuch 56), ist ohne weiteres verständlich, daß ein erheblicher Zusatz davon zu Weizenbrot (Versuch 63) dessen Nährleistung erheblich steigert. Weniger günstig wirkte der Zusatz von Hafer-, Bohnen- und Gerstenmehl. Malzextrakt ließ fast jede Wirkung vermissen.

c) Zusätze von Milch oder Milchextrakten.

Dieser Teil der Frage ist, wie oben erwähnt, von Stepp am ausführlichsten behandelt worden. Meine Erfahrungen be-

stätigen seine Angaben. Der Vergleichbarkeit wegen seien in der Tabelle V einige bereits angeführte Versuche nochmals aufgenommen.

Tabelle V.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangs-gewicht g	End-gewicht g
66	Milchbrot aus Weizenmehl	Vgl. Tab. III, Vers. 66.	1 2	Überleben den 70. Tag	17,7 20,0	21,0 16,0
67	Milchbrot aus Weizenmehl, mit Alkohol u. Äther extrahiert + 1 % Röhmanns Salzmischung	Vgl. Tab. III, Vers. 67.	1 2	Tod am 33. Tage „ „ 25. „	14,4 21,8	9,7 12,4
68	Milchbrot aus Weizenmehl, mit Alkohol u. Äther extrahiert + 7 % Ätherextrakt aus Magermilch + 1 % Röhmanns Salzmischung	Milchbrot, vgl. Tab. III, Vers. 68 und 67. Bereitung des Ätherextrakts aus Magermilch: Alkoholextraktion (Versuch 50, Tab. III), dann Erschöpfung des Rückstandes mit Äther im Soxhletapparat. Der Ätherextrakt wird mit dem ätherlösl. Teil des Alkoholextrakts (Versuch 50) vereinigt, eingeengt, im Vakuum über Schwefelsäure getrocknet.	1 2	Tod am 26. Tage „ „ 35. „	14,3 17,8	10,8 12,0
69	Milchbrot aus Weizenmehl, mit Alkohol u. Äther extrahiert + 10 % Alkoholextrakt aus Magermilch + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Milchbrot wie in Vers. 67. Alkoholextrakt aus Magermilch wie in Vers. 50.	1 2 3 4	Tod am 31. Tage Überlebt d. 63. Tag Tod am 39. Tage „ „ 34. „	14,1 17,9 13,3 12,9	10,3 14,2 9,8 10,0
51	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Magermilch + 2 % Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot wie in Vers. 2. Alkoholextrakt aus Magermilch wie in Vers. 50.	1 2 3	Tod am 43. Tage Überleben den 60. Tag	15,9 13,1 18,5	13,5 11,5 13,3
49	Weizenbrot + 5 % Ätherextrakt aus Magermilch + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie in Vers. 1. Ätherextrakt aus Magermilch, vgl. Vers. 68.	1 2 3 4	Tod am 30. Tage „ „ 27. „ „ „ 23. „ „ „ 25. „	15,8 17,8 14,6 14,5	13,1 12,7 10,5 10,5
48	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Ätherextrakt aus Magermilch + 2 % Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot, s. Vers. 2. Ätherextrakt aus Magermilch, vgl. Vers. 68.	1 2 3 4 5 6	Tod am 20. Tage „ „ 20. „ „ „ 22. „ „ „ 15. „ „ „ 27. „ „ „ 25. „	19,5 19,0 15,8 15,4 20,7 19,1	15,0 14,5 11,9 11,5 13,0 14,3

Daß die akzessorischen Nährstoffe der Milch nicht in die Butter, sondern in die Magermilch übergehen, ist bereits von Stepp beobachtet worden. Immerhin steht die ergänzende Wirkung der Magermilchextrakte in meinen Versuchen gegen jene der wässerigen Roggenbrotextrakte und der Kleie zurück. Versuche 69 und 59 weisen überdies im Vergleich zu den Versuchen 49 und 48 darauf hin, daß die lebenswichtigen Bestandteile vorwiegend alkohollöslich sein müssen.

d) Zusatz von Eidotterextrakt.

Aus Stepps Versuchen geht hervor, daß die durch Extraktion mit kaltem Alkohol und Äther gewonnenen Lipoide eine unzureichende Nahrung (extrahiertes Milchprotamol) zweckmäßig ergänzen können.

Tabelle VI.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
22	Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Eigelb + 1,5 % Asche aus Weizenfuttermehl	Weizenbrot wie in Versuch 1. Extrahiertes Weizenbrot wie in Versuch 2. Darstellung der Eigelbextrakte: Vom Eiklar getrenntes Eigelb wird mit dem 3fachen Gewicht Aceton gehärtet. Nach einigen Tagen wird koliert, abgepreßt, der Rückstand im Vakuum getrocknet, auf der Schlemm-Mühle mit Aceton verrieben und 3mal auf der Schüttelmaschine mit erneuerten Portionen Aceton extrahiert. Die vereinigten Acetonextrakte werden durch gehärtete Filter klar filtriert und bei erniedrigtem Druck eingeengt. Der erhaltene dunkelbraune Sirup, über Schwefelsäure getrocknet, nochmals mit Aceton aufgenommen, vom Ungelösten abfiltriert und von Aceton und Wasser befreit, gibt Acetonextrakt. Der acetonunlösliche Rückstand wird, wie oben bei Weizenbrot und Magermilch angegeben, zunächst bei 40 bis 50° mit 95 %igem Alkohol bis zur Erschöpfung extrahiert, der Auszug mit Äther von Ätherlöslichem befreit: Alkoholextrakt. Der ätherlösliche Teil des Alkoholextraktes bildet die Hauptmenge des Ätherextraktes, da die Ätherextraktion der mit Alkohol erschöpften Masse im Soxhlet nur Spuren Substanz ergibt.	1 2	Tod am 29. Tage „ „ 41. „	20,0 22,0	12,0 12,4
21	Extrahiertes Weizenbrot + 8 % Alkoholextrakt aus Eigelb + 1,5 % Asche aus Weizenfuttermehl		1 2	Tod am 30. Tage „ „ 21. „	29,2 17,7	17,1 10,6
18	Weizenbrot + 5 % Acetonextrakt aus Eigelb + 2 % Röhmanns Salzmischung		1 2 3	Tod am 29. Tage „ „ 22. „ „ „ 27. „	16,0 14,1 18,8	9,3 10,1 12,6
19	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Acetonextrakt aus Eigelb + 2 % Röhmanns Salzmischung		1 2 3	Tod am 13. Tage „ „ 19. „ „ „ 22. „	14,7 15,0 17,3	13,1 11,2 12,1
20	Weizenbrot + 3 % Ätherextrakt aus Eigelb + 2 % Asche a. Weizenfuttermehl		1 2 3 4 5	Tod am 18. Tage „ „ 17. „ „ „ 19. „ „ „ 21. „ „ „ 19. „	11,5 12,5 14,5 16,2 15,4	8,5 9,1 12,0 12,3 11,5

In obigen Versuchen war die Wirkung der Dotterextrakte nicht so augenfällig wie bei Stepp. Es ist nicht zu entscheiden,

ob etwa die Verschiedenheit der Hauptnahrung — bei Stepp extrahiertes Milchprotamol, bei mir Weizenbrot — oder die von mir angewandten geringen Mengen an diesem Unterschiede Schuld tragen. Immerhin ist deutlich der günstige Einfluß des Alkoholextraktes auf die Lebensdauer zu erkennen, während der Ätherextrakt anscheinend ganz versagt.

e) Zusatz von Rinderhirnextrakt.

Tabelle VII.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
26	Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Rinderhirn + 1,5 % Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie in Versuch 1. Extrahiertes Weizenbrot wie in Versuch 2. Bereitung der Hirnextrakte: Frisches Rinderhirn wird auf der Schlemm-Mühle mit 95 %igem Alkohol zermahlen und mit dem 2 bis 3fachen Gewicht des 95 %igen Alkohols einige Tage gehärtet. Der Brei wird dann abkoliert, abgepreßt und im Vakuum bei 40 bis 50° getrocknet. Die trockene Masse wird nochmals auf der Schlemm-Mühle mit absolutem Alkohol verrieben, dann 3mal durch 24stündiges Schütteln auf der Schüttelmaschine mit absolutem Alkohol erschöpft. Die vereinigten Alkoholextrakte werden bei niederer Temperatur eingeengt und der resultierende braune Sirup ausgeäthert. Der ätherunlösliche Anteil: Alkoholextrakt. Der lösliche Teil wird mit dem Extrakt vereinigt, der durch direktes Ausziehen des Hirnpulvers mit Äther im Soxhletapparat erhalten wird. Die gesamte Lösung im Vakuum eingeengt: Ätherextrakt.	1 2	Tod am 33. Tage " " 34. "	19,0 17,9	13,2 12,6
25	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Alkoholextrakt aus Rinderhirn + 1,5 % Röhmanns Salzmischung		1 2	Tod am 28. Tage " " 24. "	17,8 19,3	12,2 14,3
24	Weizenbrot + 5 % Ätherextrakt aus Rinderhirn + 1,5 % Röhmanns Salzmischung		1 2	Tod am 25. Tage " " 27. "	21,1 19,6	13,8 9,9
23	Extrahiertes Weizenbrot + 5 % Ätherextrakt aus Rinderhirn + 1,5 % Asche v. Weizenfuttermehl		1 2 3	Tod am 22. Tage " " 19. " " " 19. "	24,5 16,0 14,3	14,0 12,0 10,0

Daß der Alkoholätherextrakt aus Kalbshirn bei Mäusen, die mit einer lipoidarmen Kost genährt wurden, günstig wirkt, ist von Stepp gezeigt worden. Ein Zusatz davon hatte bei Fütterung mit in Wasser anhaltend gekochtem Protamol eine lebensverlängernde, bei Fütterung mit in Wasser gekochtem Milchbrot eine geradezu lebensrettende Wirkung. Auch in obigen Versuchen mit Weizenbrot tritt der günstige Einfluß des Alkoholextraktes deutlich hervor, während die ätherlöslichen Stoffe keine unzweifelhafte Wirkung erkennen lassen. Auch hier gelingt die Ergänzung bei dem nichtextrahierten Weizenbrot deutlicher als bei dem extrahierten.

f) Versuche mit Cholesterin, Cerebron und Kephalin.

Wie oben erwähnt, zeigen Stepps Versuche, daß die in der Milch nachweisbaren akzessorischen Nährstoffe durch anhaltendes Erhitzen mit Alkohol und Wasser zerstört werden, was sich mit der Vorstellung, daß es sich um Lipoide im Sinne älterer Autoren handelt, gut vereinen läßt. Doch konnte Stepp keine bestimmten Lipoide als Träger der lebenserhaltenden Wirkung namhaft machen. Die wenigen Versuche mit Cholesterin, mit Merckschem Lecithin und mit Riedels Lecithol verliefen negativ. Es war daher wünschenswert, zu prüfen, ob die bekannten reinen Lipoide die Mausernährung im Sinne der aus Dotter und Hirn dargestellten Alkohol- und Ätherextrakte beeinflußten.

Tabelle VIII.

Prot.-Nr.	Nahrung	Zubereitung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
15	Weizenbrot + 3% Cholesterin + 1,5% Asche aus dem Alkoholätherextrakt des Weizenbrotes	Weizenbrot vgl. Versuch 1. Cholesterin, dargestellt aus Acetonextrakt von Rinderhirn. Zuletzt aus Aceton-Alkoholmischung umkrystallisiert.	1 2	Tod am 21. Tage „ „ 20. „	20,1 16,3	12,1 11,9
14	Extrahiertes Weizenbrot + 3% Cholesterin + 1,5% Asche vom Alkoholätherextrakt des Weizenbrotes	Extrahiertes Weizenbrot wie in Versuch 2. Cholesterin s. Versuch 15.	1 2 3 4	Tod am 17. Tage „ „ 11. „ „ „ 15. „ „ „ 14. „	11,5 11,5 15,0 12,8	8,7 9,3 11,0 9,0
17	Weizenbrot + 2% Cerebron + 1,5% Röhmanns Salzmischung	Weizenbrot wie in Versuch 1. Cerebron aus Benzolextrakt des Rinderhirns beim Einengen ausgefallen. Aus Alkohol, zuletzt aus Methylalkohol-Chloroform nach Thierfelder umkrystallisiert.	1 2	Tod am 20. Tage „ „ 25. „	14,0 15,2	9,0 10,2
16	Extrahiertes Weizenbrot + 2% Cerebron + 1,5% Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot wie in Versuch 2. Cerebron vgl. Versuch 17.	1 2 3	Tod am 20. Tage „ „ 16. „ „ „ 17. „	25,0 16,0 15,8	13,9 11,6 11,1
13	Weizenbrot + 5% Kephalin + 2% Asche von Weizenfuttermehl	Weizenbrot wie in Versuch 1. Darstellung des Kephalins aus Rinderhirn nach Parnas; vgl. Renall, diese Zeitschr. 55, 296.	1 2	Tod am 38. Tage „ „ 37. „	18,3 16,9	12,2 12,1
12	Extrahiertes Weizenbrot + 5% Kephalin + 1,5% Röhmanns Salzmischung	Extrahiertes Weizenbrot wie in Versuch 2. Kephalin wie in Versuch 13.	1 2 3 4	Tod am 37. Tage „ „ 23. „ „ „ 21. „ „ „ 19. „	25,3 23,2 17,7 17,3	16,8 15,7 11,0 11,8

Es wäre sehr wünschenswert gewesen, dieser Reihe noch Versuche mit einem reinen Lecithin zuzufügen. Bei der Zersetzlichkeit des Lecithins und der sich daraus ergebenden Schwierigkeit, es von anderen Phosphatiden oder Lipoiden zu trennen, mußte darauf verzichtet werden. Immerhin bietet eine Versuchsreihe, die mit käuflichen Lecithinpräparaten angestellt wurde, ein gewisses Interesse.

g) Versuche mit Lecithinpräparaten.

Tabelle IX.

Prot.-Nr.	Nahrung	Nr. d. Tieres	Ergebnis	Anfangsgewicht g	Endgewicht g
10	Weizenbrot (wie in Versuch 1) + 5 % Lecithin-Agfa + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt des Weizenbrotes.	1 2	Tod am 42. Tage „ „ 33. „	18,5 17,8	11,2 11,8
4	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithin-Agfa + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt des Weizenmehles.	1 2	„ „ 20. „ „ „ 35. „	14,7 16,0	10,7 10,0
11	Weizenbrot (wie in Versuch 1) + 5 % Lecithin purum Merck + 1,5 % Asche aus Weizenfuttermehl.	1 2	„ „ 19. „ „ „ 29. „	16,1 16,8	10,7 11,3
6	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithin pur. Merck + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt von Weizenbrot.	1 2	„ „ 15. „ „ „ 15. „	18,8 17,3	11,4 11,2
8	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithin techn. Merck + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt von Weizenbrot.	1 2	„ „ 16. „ „ „ 15. „	16,5 16,3	9,8 11,0
9	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithin II Merck + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt aus Weizenbrot.	1 2 3	„ „ 11. „ „ „ 18. „ „ „ 12. „	16,0 12,8 19,1	10,0 8,2 13,3
5	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithin Kahlbaum + 1,5 % Asche vom Alkoholätherextrakt aus Weizenbrot.	1 2	„ „ 20. „ „ „ 21. „	22,3 16,2	15,1 11,7
7	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithin Schuchardt + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt aus Weizenbrot.	1 2	„ „ 19. „ „ „ 15. „	17,0 18,8	10,7 11,2
3	Extrahiertes Weizenbrot (wie in Versuch 2) + 5 % Lecithol Riedel + 1,5 % Asche aus Alkoholätherextrakt aus Weizenbrot.	1 2	„ „ 19. „ „ „ 27. „	19,2 17,8	12,8 11,[illegible]

Aus den Tabellen VIII und IX geht hervor, daß von den untersuchten Lipoiden bloß das reine Kephalin eine ausgesprochene Lebensverlängerung bewirkte; in ihm wäre daher zunächst die wirksame Substanz der Steppschen Lipoide zu vermuten. Wenn sich daneben auch Lecithin „Agfa“ als relativ wirksam erwiesen hat, so ist daran zu erinnern, daß dieses aus Eidotter hergestellte Präparat ein Gemenge ist, das nicht allein aus dem typischen Lecithin der Handbücher besteht.

Schlußergebnis.

1. Mit Wasser bereitetes Roggenbrot ist als Nährmaterial für weiße Mäuse dem aus feinem Weizenmehl bereiteten Brot weit überlegen.

2. Durch Zusatz von Milch, Preßhefe, Roggenfuttermehl, Weizenfuttermehl und daraus sowie aus Kommißbrot bereiteten Extrakten kann die Nährleistung des Weizenbrotes wesentlich gehoben und jener des Roggenbrotes gleichgemacht werden.

3. Die für die Erhaltung des Lebens notwendigen akzessorischen Bestandteile des Roggenbrotes lassen sich leicht mit Wasser, aber nicht mit Alkohol und Äther ausziehen und dürfen daher vorderhand nicht mit den lipoidähnlichen akzessorischen Nährstoffen der Milch identifiziert werden.

Über „Lackmosol“, den empfindlichen Bestandteil des Indicators Lackmoid. Darstellung und einige Eigenschaften.

Von

R. Hottinger.

(Aus dem Zootechnisch-biologischen Institut, Escola Polytechnica São Paulo, Brasilien.)

(Eingegangen am 5. April 1914.)

Mit 1 Figur im Text.

Zusammenfassung.

Das käufliche Lackmoid puriss. besteht vornehmlich aus drei verschiedenen Farben, deren Farbenumschläge zum Teil antagonistische sind. „Lackmosol“ wird in diesem Lackmoid zu etwa 20% gefunden.

Die Darstellung aus Resorcin ist folgende: 10 g Resorcin werden in einem Kölbchen mit 2 ccm konzentrierter wässeriger $NaNO_2$-Lösung etwa 40 Minuten bei 105° gehalten. Die Temperatur der Schmelze darf 110° nicht erreichen. Lösen des Reaktionsgemisches in Wasser und Eingießen in mindestens 1 l salzsaure konzentrierte Kochsalzlösung. Der Niederschlag wird abgenutscht, mit Kochsalzlösung gut nachgewaschen, ev. nach Lösen in NH_4OH mit HCl umgefällt, in wenig Aceton oder Alkohol gelöst und in etwa 30faches Volumen Äther gegossen. Im Äther bleibt Lackmosol gelöst, während Lackmoid ausfällt. Die Reinigung beruht auf einem öfteren Umfällen der alkalischen Lackmosollösung durch Eingießen in saure Kochsalzlösung, sowie auf vollständiger Ätherlöslichkeit. Zu diesem Zwecke wird schließlich der gepulverte Indicator im Soxhlet erschöpft. Der Indicator kann in rein wässeriger, ätherischer oder alkoholischer (acetonischer) Lösung angewendet werden.

Durch die folgenden Untersuchungen dürfte der Nachweis geleistet sein, daß Lackmosol den üblichen Indicator

Lackmoid in allen Fällen, wo dieser letztere sonst angewendet wurde, zu ersetzen hat.

In bezug auf Empfindlichkeit, Reinheit des Farbenumschlages und Konstanz der Zusammensetzung ist Lackmosol dem Lackmoid entschieden überlegen.

Besonders zu empfehlen ist der Indicator bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Einleitung.

Bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wird zur Titration der vorgelegten Säure Lackmoid als Indicator empfohlen, meist mit Zusatz von β-Naphtholgrün, um einen violetten Nebenton zu kompensieren.

Bekanntlich sind aber die Ansichten über die Brauchbarkeit des Lackmoids als Indicator sehr geteilt. Einige Chemiker treten entschieden für denselben ein, während ihm andere nur ein beschränktes Lob zollen. Die Gründe für diese Meinungsverschiedenheit könnten allerdings rein subjektiver Natur sein, was bei Beurteilung von Farben und Farbenveränderungen ohne weiteres verständlich wäre. Wahrscheinlicher aber ist die Annahme, daß als Lackmoid sehr verschiedene Körper verwendet werden, die durch ihre abweichenden Zusammensetzungen und Eigenschaften auch von ein und demselben Beobachter verschieden beurteilt wurden. Zwar kommt Lackmoid puriss. in den Handel. Die Bezeichnung ist aber durchaus unverdient, wie nachfolgend bewiesen werden soll. Lackmoid puriss. ist eine Mischung recht verschiedener Farben.

Als besonders empfindlicher Bestandteil des Lackmoids kommt nur ein Körper in Frage, für den die Benennung „Lackmosol“ gewählt wurde. Damit soll einerseits die Verwandtschaft mit dem Lackmoid angedeutet, andererseits aber eine Verwechslung mit dem unreinen Lackmoid vermieden werden. Der Name ist um so mehr gerechtfertigt, als selbst aus gutem Lackmoid puriss. kaum 20 % Lackmosol isoliert werden können.

Darstellung des Lackmosols.

Wie erwähnt, kann das Lackmoid als Ausgangsmaterial verwendet werden. Die Ausbeute ist aber derart gering, daß die Synthese entschieden vorzuziehen ist, um so mehr als sie

keinerlei Schwierigkeiten bietet. Der Ertrag ist aber bei demselben Aufwand an Arbeit und Reagenzien bedeutend größer. Dennoch sei vorerst die Isolierung aus Lackmoid besprochen, weil dabei am besten die Natur desselben resp. der Komponenten zum Ausdruck kommt.

Die Isolierung des Lackmosols beruht namentlich auf seiner Ätherlöslichkeit. Wird eine konzentrierte Lösung von Lackmoid in Alkohol oder besser Aceton hergestellt und in etwa 20 mal mehr Aether sulf. gegossen, so erhält man eine ätherische, rote Lösung, während sich ein mehr oder weniger starker Niederschlag bildet. Die alkoholische Lösung muß konzentriert sein. Am besten wird der Extrakt erst etwas eingedampft, um nicht zu große Mengen Äther verwenden zu müssen. Hat sich der Niederschlag abgesetzt, so wird filtriert und das Filtrat destilliert. Ist der größte Teil des Äthers übergegangen, so wird der Rest von Ätheraceton resp. Alkohol durch Einblasen von Luft in den Kolben entfernt.

Der Rückstand wird wieder mit Aceton aufgenommen und die Lösung (am besten durch Glaswolle) in viel Äther hineinfiltriert. Diese Prozedur wird wiederholt, bis sich kein Niederschlag mehr bildet, auch wenn sehr konzentrierte Lösungen in einen großen Überschuß Äther gegossen werden. Zur Extraktion nachstehend beschriebener Körper wurde ein leicht saurer Alkohol verwendet [schlecht rektifizierter Handelsalkohol H^+ $1{,}6 \cdot 10^{-5}$, worin Lackmosol leicht, die anderen Körper zum Teil „schwer löslich" sind[1])].

Der Abdampfrückstand der ätherischen Lösung ist unreines Lackmosol. Die Ausbeute beträgt etwa 20 % des angewendeten Lackmoids.

Der ätherunlösliche Niederschlag, etwa 80 %, muß als Lackmoid betrachtet werden, denn es darf doch nicht an-

[1]) Die verschiedenen Handelsprodukte, die untersucht wurden, sind schwer oder nur teilweise löslich. In Alkohol absol. lösten sich 2 Fabrikate zu 0,27 %, das andere 0,15 % Daß Lackmoid nicht schwer löslich, sondern teilweise löslich ist, dürfte aus folgendem Versuche hervorgehen: 2 g des Präparates wurden in einer Reibschale in kleinen Portionen mit Alkohol verrieben und dekantiert, bis das Gesamtvolumen 500 ccm betrug. Der reichliche, sehr feine Rückstand wurde auf dem Wasserbade mit Alkohol aufgekocht. Die so erhaltene Lösung enthielt (colorimetrisch bestimmt) 14,3 mal weniger Farbstoff als der erste Extrakt. Natürlich war noch ein reichlicher Niederschlag nach dem Aufkochen vorhanden.

genommen werden, daß das Handelsprodukt „puriss.“ über 80 % Verunreinigung enthalte. Aus der Darstellungsweise des käuflichen Indicators geht des weiteren hervor, daß sich dabei Lackmosol nur in sehr geringen Ausbeuten erhalten läßt.

Die beiden obigen Präparate enthalten noch einen gelben, bei alkalischer Reaktion rotbraunen, in Äther unlöslichen Farbstoff, der erhalten wird, wenn dieselben aus alkalischer Lösung durch Ansäuern ausgefällt werden. Gelegentlich werden noch andere Verunreinigungen gefunden, doch dürften namentlich diese drei Komponenten für die Qualität des Indicators bestimmend sein. Dies erhellt ohne weiteres aus den Eigenschaften derselben; natürlich muß die Trennung eine vollständige, die Farben also tunlichst rein sein.

Was das käufliche Lackmoid anbetrifft, so seien die Ansichten einiger Autoren angeführt: C. Krauch (Prüfung der chemischen Reagenzien) gibt die Prüfungsvorschriften von Förster wieder. Es wird Wert darauf gelegt, daß Lackmoid wasserlöslich sei. Kochendes Wasser soll sich, mit dem Indicator versetzt, blau färben. Auch die alkoholische Lösung soll eine schöne blaue, ein wenig ins Violette spielende Farbe zeigen. Förster rügt, daß sehr schlechte Präparate im Handel seien, die kaum Farbstoff an Wasser abgeben. Bekanntlich wird oft, um den Farbenumschlag klarer zu machen, β-Naphtholgrün zugesetzt. Krauch gibt ferner die Eigenschaften des Diazoresorcins, das er als Lackmoidfarbstoff in völlig reiner Form anspricht. Es ist ein in Wasser unlösliches Präparat, schwer löslich in Alkohol, in Alkali mit blauvioletter Farbe löslich und fluorescierend. Mit diesem Diazoresorcin stimmten die Eigenschaften der von Kahlbaum und Merck bezogenen Präparate ziemlich überein; abgesehen von der Fluorescenz, die ganz unbedeutend war.

Wenn das wasserunlösliche Diazoresorcin Lackmoid in völlig reiner Form ist, kann es niemals den Ansprüchen (Wasserlöslichkeit) entsprechen, die Förster an den Indicator stellt. Das wasserlösliche Produkt im guten Lackmoid müßte also eine Verunreinigung des Diazoresorcins Weselskys sein, was offenbar einen Widerspruch in sich schließt. Es wäre demnach gerade die wasserlösliche Verunreinigung der gesuchte Indicator.

Durch die oben skizzierte und noch näher zu besprechende Methodik lassen sich aus dem käuflichen Lackmoid leicht drei sehr verschiedene Farbstoffe isolieren. Nachfolgende Tabelle gibt über ihre Eigenschaften Aufschluß.

Lackmoid (käuflich).

Verhalten zu	(Diazoresorcin ?)		
	Lackmosol ca. 20 %	Lackmoid ca. 80 %	gelb-roter Farbstoff
Aether sulf.[1] . . .	löslich, rot	unlöslich	unlöslich
Äthylalkohol	löslich	„ [2])	—
Amylalkohol	„	„	—
Eisessig	löslich, rot	„	gelb
Verd. Ammoniak . .	löslich, reinblau	löslich, schmutzig rotviolett	rotbraun
Wasser kalt	blau	unlöslich	löslich
„ heiß	rotviolett	„	„
Fluorescenz[3]) (alkal. Lösung)	fehlt	undeutlich	blau und grün
Kochsalzlösung (konz. sauer)	unlöslich	unlöslich	löslich
Aceton	löslich	„	—
Zustand	kolloidal	kolloidal	dialysierbar

[1]) Äther, frisch über Na destilliert, löst vorerst nicht. Etwas wasserhaltig nimmt er bald Lackmosol auf. Dabei färbt sich die Lösung rot. Der Äther ist leicht sauer geworden. Wird etwas Ammoniak zugesetzt und geschüttelt, so geht Lackmosol in die wässerige blaue ammoniakhaltige Lösung.

[2]) Eine alkalische Lösung in etwa 40 %igem Alkohol gibt nach dem Ansäuern einen Niederschlag. Die Lösung wird fast farblos. Wird der voluminöse Niederschlag abfiltriert, so kann er mit 96 %igem Alkohol gewaschen werden, ohne Farbe abzugeben. Getrocknet wird der Farbstoff selbst in Alkalien schwer löslich.

[3]) **Fluorescenz:** Zur Prüfung wurde Eisenbogenlicht benutzt. Die Lösungen sind in Glas und Quarzgefäßen im Lichtkegel einer Quarzlinse untersucht worden. Durch diese Anordnung werden sehr kurzwellige Strahlen nutzbar gemacht, wodurch selbst schwache Fluorescenzerscheinungen sicher beobachtet werden können. Trotzdem gelang es nicht, bei Lackmoid resp. Diazoresorcin Fluorescenz nachzuweisen. Die schmutzigbraun-orange Verfärbung des Lichtkegelrandes ist in der Tabelle als undeutliche Fluorescenz bezeichnet. Lackmosol fluoresciert in wässeriger Lösung nicht; dagegen ist der Lichtkegel einige Millimeter von der Gefäßwand entfernt, leicht grün gesäumt. Dies ließ darauf schließen, daß der Farbstoff nicht genügend rein, wahrscheinlich mit dem gelbroten Nebenprodukt verunreinigt sei. Diese Voraussetzung wurde durch die capillaranalytische Untersuchung bestätigt.

Die in der Tabelle angegebenen recht scharfen Unterschiede setzen eine weitgehende Reinigung voraus. Die Farben absorbieren sich gegenseitig sehr stark. Sie verhalten sich in dieser Beziehung ähnlich wie Albumosenpeptongemische.

Capillaranalytische Untersuchung.

Werden die noch nicht vollkommen reinen isolierten Farbstoffe capillarisiert, so zeigt sich eine Trennung derart, daß sich Lackmoid in den unteren Zonen ansammelt, worauf Lackmosol folgt, während die gelbrote Farbe sich in gut begrenzter Zone am obersten Ende ansammelt. Für diese Untersuchungen eignen sich Alkoholextrakte des käuflichen Lackmoids sehr gut. Dieselben enthalten immer die drei angeführten Farben. Quantitativ wurden die Zonen nicht analysiert. Aus ammoniakalischer Lösung capillarisiert ist der getrocknete Papierstreifen in der Lackmoidzone braunviolett, im Lackmosol blau und im obersten Ende rötlichbraun gefärbt.

Ultramikroskopische Prüfung.

(Einrichtung Siedentopf-Zsigmondy; 15 Amp. Gleichstrom; Objektiv Zeiß D^+.)

Lackmosol löst sich in Alkohol und Alkalien sehr leicht, es resultiert eine sehr schöne blanke Lösung. Beim Lackmoid liegt dieser Fall entschieden anders. Wenn rein, lassen sich immer schwieriger Lösungen in den genannten Mitteln herstellen; namentlich beim Austrocknen geht die Löslichkeit zurück. Die makroskopische Prüfung erweckt den Eindruck, daß es sich um ein verschieden abgestuftes Suspensionskolloid handle, besonders, wenn die Lösung in der Reibschale angerieben wird. Ein äußerst feiner Niederschlag geht vorerst durch selbst dichte Papierfilter. Die Lösung wird klarer, aber nicht blank.

Im Ultramikroskop erweist sich Lackmosol als hochdispers. Der Lichtkegel ist fast leer, homogen und auch in konzentrierteren Lösungen schwach abstechend.

Lackmoid zeigt das Verhalten einer monatelang gestandenen Kollargollösung, die bekanntlich teilweise eine sehr feine Suspension, teilweise ein Suspensoid ist.

Beim gelbroten Farbstoff ist der Lichtkegel auch in stark verdünnten, kaum gefärbten Lösungen sehr hell, grünlich (Fluorescenz) und homogen.

Spektroskopische Prüfung.

(Festarmiger Prismenspektralapparat Universal Zeiß; Wellenlängen nach geeichter Kurve.)

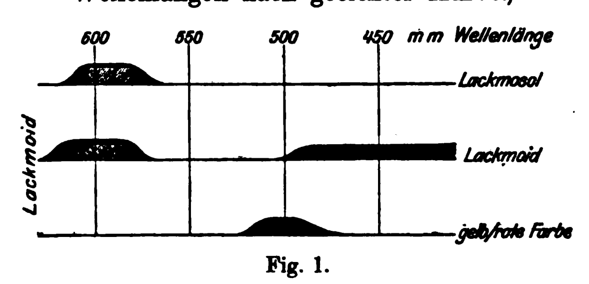


Fig. 1.

Beigefügte Figur zeigt die Absorptionsspektra der drei Farben in alkalischer Lösung. Die Verschiedenheit derselben tritt sehr klar hervor. Beim „Lackmoid" findet die sehr undeutliche Fluorescenz eine Bestätigung, indem die Absorption im Blau und Violett grüne Fluorescenz hervorbringen könnte, die aber durch rote Fluorescenz (Absorptionsband im Orange) maskiert wird. Der gelbrote Farbstoff fluoresciert stark. Vermischt mit Lackmosol wird diese Erscheinung kaum beeinflußt, hingegen drängt Lackmoidlösung die Fluorescenz stark zurück. Dadurch ist wahrscheinlich gemacht, daß bei Lackmoid beide Absorptionsbänder Fluorescenz erregen, deren Farben angenähert komplementär sind. Die starken Absorptionen im Blau und Violett und zudem im Orange erklären die rotviolette Farbe des Farbstoffes in alkalischer Lösung. Das Spektrogramm des Lackmosols hingegen bestätigt auf objektive Art die rein blaue Farbe, als die sie in der Tabelle angegeben ist. Zur Technik der Untersuchung sei noch bemerkt, daß bei obigen beiden Farbstoffen nicht die Grenzverdünnung (Formánek und Grandmougin) gewählt, sondern das Lackmoid so verdünnt wurde, daß die Intensität der Bänder im Orange angenähert dieselbe war.

Empfindlichkeit.

Der Farbenumschlag ist, wie bei Lackmus oder Lackmoid, sauer rot, alkalisch blau. Zur Prüfung der Empfindlichkeit

wurden die bekannten Phosphatgemische, $H^{\cdot}$-Konzentrationsstufen, sowie die Citratmischungen Sörensens benutzt. Namentlich die letzteren eignen sich sehr gut, da die reine Standardlösung, sekundäres Natriumcitrat, gegen Lackmosol neutral reagiert und Zusatz von Säure oder Alkali die $H^{\cdot}$-Konzentration verhältnismäßig wenig beeinflußt.

Wir haben also:

Neutralpunkt bei $p_{H^{\cdot}}$[1]) $= 4{,}95$ oder $(C_{H^{\cdot}}) = 1{,}1 \cdot 10^{-5}$.

Citrat + Salzsäure:

Rot bei $p_H = 4{,}4$ oder $(H^{\cdot}) = 4 \cdot 10^{-5}$, „saure Reaktion“.

Citrat + Natron:

Blau bei $p_{H^{\cdot}} = 5{,}5$ oder $(C_{H^{\cdot}}) = 3{,}2 \cdot 10^{-6}$, „alkalische Reaktion“.

Diese Farbenumschläge gelten für die Titration, rot wie auch blau sind sehr deutlich und rein ausgeprägt; die Grenzen werden beim Titrieren sicher enger gefaßt. Damit sind die Grenzen des Reaktionsgebietes allerdings nicht erreicht, d. h. das Rot wie das Blau zeigen noch einen Stich ins Violette, der erst bei größerer resp. geringerer $H^{\cdot}$-Konzentration verschwindet. Dies ist sicher erreicht bei

$p_{H^{\cdot}} = 4{,}2$ oder $(C_{H^{\cdot}}) = 6{,}3 \cdot 10^{-5}$, rot;
$p_{H^{\cdot}} = 6{,}0$ „ $(C_{H^{\cdot}}) = 1 \cdot 10^{-6}$, blau.

Obigen Angaben liegt die graphische Darstellung von Sörensen zugrunde; aus derselben ist leicht ersichtlich, daß die Phosphatkurve für Lackmosol nicht ausreichend ist. Immerhin wurden zur Kontrolle der Lösungen resp. der Reinheit der Reagenzien beide Mischungen angewandt. Die Resultate deckten sich sehr gut.

Lackmoid wurde nicht näher geprüft, hingegen erwies ein Versuch bedeutend geringere Empfindlichkeit und unschönen Farbenumschlag.

Für Lackmoid finden sich Angaben in den Tabellen von Salm und Friedenthal, die sehr stark unter sich abweichen.

---

[1]) Sörensen (diese Zeitschr. 21) bezeichnet den „Wasserstoffionenexponenten“ mit $p_{H^{\cdot}}$. In Neuberg (Der Harn, S. 1529) braucht Bottazzi dafür $C_{H^{\cdot}}$, also die Bezeichnung der Wasserstoffionenkonzentration nach Sörensen. Wenn auch ein Irrtum ausgeschlossen ist, sollten doch die Angaben des Autors eingehalten werden.

Das ist leicht verständlich. Nach dem oben Gesagten ist Lackmoid eine Farbenmischung ganz unbestimmter Zusammensetzung resp. Mischung, wobei der schwer zu vermeidende gelbrote Stoff den Farbenumschlag blau-rot sehr beeinträchtigen muß. Nachstehend finden sich die Angaben in Tabellenform (Salm und Friedenthal) sowie die Empfindlichkeitsgrenzen für Lackmosol.

	$C_{H^\cdot} = 1 \cdot 10^{-4}$	$C_{H^\cdot} = 1 \cdot 10^{-5}$	$C_{H^\cdot} = 1 \cdot 10^{-6}$	$C_{H^\cdot} = 1 \cdot 10^{-7}$	$C_{H^\cdot} = 1 \cdot 10^{-8}$
Lackmoid (Salm)	rosa	violett	violettblau	blau, Stich violett	blau
Lackmoid (Friedenthal)		rosa	violettblau	blau, Stich violett	blau
Lackmosol	$6{,}3 \cdot 10^{-5}$ rot	violett	blau		

In obiger Tabelle sind die Zonen der Farbumschläge besonders hervorgehoben. Dieselben betragen für Lackmoid 3 resp. 2 Zonen. Der Neutralpunkt liegt nach Salm etwa bei $1 \cdot 10^{-6}$, nach Friedenthal bei etwa $5 \cdot 10^{-6}$, während bei Lackmosol schon oben $1{,}1 \cdot 10^{-5}$ angegeben wurde. Bei diesem letzteren finden sich die Übergänge der drei Stufen bei Salm auf die Grenzen einer Stufe reduziert. Dies ist nun kein bedeutender Vorteil, ein solcher liegt erst darin, daß bei der Titration der Umschlag scharf und nicht mißfarbig ist. An diesem Übelstand leidet aber Lackmoid. Er dürfte bei Lackmosol stark eingeschränkt sein.

Durch obige Angaben ist Lackmosol im Verhältnis zu Lackmoid genügend gekennzeichnet. Nachstehend ist die Synthese aus Resorcin gegeben, sowie die Prüfung auf Reinheit.

Die Darstellung des Lackmosols ist ähnlich derjenigen des Lackmoids. Es resultieren wohl immer beide Körper, wie durch die Untersuchung des Lackmoids gezeigt wurde. Versuche haben ergeben, daß es leicht ist, Lackmosol in guter Ausbeute zu erhalten und die Bildung des wasserunlöslichen Diazoresorcins zurückzudrängen. Die Einwirkung des Natriumnitrits ist bei der Darstellung des Lackmoids zu energisch, um den wasserlöslichen Körper Lackmosol ausgiebig zu erhalten. Die Steigerung der Temperatur in der Schmelze bis 120°, das

Innehalten dieser Temperatur bis zum Verschwinden des Ammoniaks läßt einen in Wasser fast unlöslichen Körper zurück.

Darstellung des Lackmosols.

10 g Resorcin werden in einem Kölbchen mit 2 ccm konzentrierter $NaNO_2$-Lösung versetzt, im Vaselinbad[1]) allmählich auf höchstens 105° erwärmt (Thermometer im Kölbchen, ein anderer im Vaselinbad). Die Temperatur im Reaktionsgemisch steigt bei eintretender Ammoniakentwicklung etwas über 105°. Es ist darauf zu achten, daß 110° nicht erreicht oder gar überschritten werden. Das Ende der Einwirkung wird durch die eintretende Blaufärbung festgestellt und diese wie folgt geprüft. Eine Reihe Kölbchen oder Bechergläser mit ca. 50 ccm Wasser werden bereitgestellt. Von 10 zu 10 Minuten betupft man mit der aus der Schmelze genommenen Thermometerspitze leicht die Oberfläche einer dieser Wasserproben und prüft die Farbe. Nach der ersten Viertelstunde wird das betupfte Wasser rotviolett gefärbt. Die Schmelze soll hin und wieder umgerührt werden, wobei ein starkes Beschmutzen der Kölbchenwand zu vermeiden ist. Das in der Folge betupfte Wasser nimmt eine immer tiefer violettblau-blaue Färbung an. Der Prozeß ist nach etwa 40 Minuten beendigt. Wird nach dieser Zeit, meist schon früher, eine Wasserprobe betupft, so ändert auch eine weitere Einwirkung der Temperatur nichts mehr an der Nuance der Farbe.

Zur Schmelze werden nunmehr etwa 50 ccm Wasser gefügt und durch Umrühren erstere gelöst. Die Lösung wird unter Umrühren in einen Liter konzentrierte Kochsalzlösung gegossen, die mit Salz oder Schwefelsäure angesäuert ist. Diese Lösung muß auch nach Zufügen der Schmelze noch sauer sein. Die Verwendung von Wasser statt Kochsalzlösung hätte, durch Lösen von Lackmosol, einen beträchtlichen Verlust zur Folge (Löslichkeit in Wasser!). Nach einiger Zeit bildet sich ein feiner Niederschlag, der am besten auf der Nutsche abgesaugt wird.

Gelöst bleiben die braunrote Farbe sowie unzersetztes Resorcin, die aus dem Niederschlag ausgewaschen werden müssen.

---

[1]) Das Vaselinbad ist angenehmer zu handhaben als das Öl- oder Paraffinbad.

Das Resorcin erhöht die Wasserlöslichkeit des Niederschlages bedeutend.

Der Niederschlag wird gut nachgewaschen (immer mit NaCl-Lösung), in verdünntem Ammoniak gelöst und wieder in saure Kochsalzlösung gegossen. Nach gutem Auswaschen wird der Niederschlag in wenig Aceton gelöst und in ein etwa 70faches Volumen gewöhnlichen, nicht über Na destillierten Äthers gegossen. Nach Schütteln wird einige Stunden stehen gelassen, dann die rote Lösung von einem rotbraunen, feinen Niederschlag abfiltriert. Nach dem Abdestillieren des Äthers ist diese Operation zu wiederholen, bis sich im Äther kein Niederschlag mehr bildet.

Das Lackmosol enthält immer noch den gelbroten Farbstoff, der, wie zuerst beschrieben, durch Lösen in Alkali und Umfällen entfernt werden kann. Nach dem oben Gesagten (Fluorescenz, Spektrogramm) ist gerade dieser Farbstoff eine unangenehme Verunreinigung und sollte, soweit möglich, entfernt werden. Schließlich wird der gepulverte Indicator im Soxhlet mit Äther erschöpft.

Eigenschaften.

Die Tabelle (S. 181) gibt einige Eigenschaften des Indicators ebenso die angeführten Ergebnisse der Untersuchungen der Farben des Lackmoids (S. 182ff.). Was die Löslichkeit in Alkoholen anbelangt, ist hervorzuheben, daß sehr verdünnte Lösungen blau sind, während mit steigender Konzentration die Farbe in Rot übergeht. Die verschiedenen Alkohole beeinflussen diesen Farbenwechsel, je nach ihrer Stellung in der Reihe und der Wertigkeit. Vergleichende Versuche wurden vor Jahren durchgeführt, wegen Zeitmangel mußten sie aufgegeben werden. Inzwischen scheinen sich die Alkohole verändert zu haben; die Resultate waren nicht mehr so einstimmig, so daß Nachprüfung notwendig ist.

Schön ist folgender Versuch: Eine möglichst konzentrierte Lösung Lackmosol in Wasser wird mit wenig Alkohol überschichtet und sehr leicht bewegt, darüber wird sodann Äther geschichtet. Das Wasser ist violett, die Alkoholschicht rein blau und der Äther rein rot. Wird eine wässerige neutrale Lösung mit frisch destilliertem (über Na) Äther kurz geschüttelt, so bleibt

derselbe vorerst farblos, färbt sich aber (wohl mit zunehmender Zersetzung) allmählich rot. Der käufliche, über Na destillierte Äther reagiert meist sauer gegen Lackmosol.

Die Anwendbarkeit des Lackmosols

ist im allgemeinen diejenige des Lackmoids, in dem es zu etwa $^1/_5$ enthalten ist. Schwefelwasserstoff entfärbt, hingegen sind Nitrite titrierbar.

Über die Brauchbarkeit bei Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration für physiologische Zwecke kann ich nichts Bestimmtes aussagen; meine Erfahrungen sind nicht genügend. Besser als Lackmoid eignet sich Lackmosol entschieden, besonders wenn eine wenig alkoholhaltige ätherische Lösung verwendet wird. Auch so resultiert gelegentlich bei Urinproben eine wenig erfreuliche Mischfarbe.

Carbonate sind in der Kälte nicht titrierbar wegen zu großer Kohlensäureempfindlichkeit.

Besonders geeignet ist der Indicator hingegen zur Titrierung von Ammoniak, also auch bei der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl.

Beitrag zur Kenntnis des wirksamen Prinzips der Hypophyse.

Von

M. Guggenheim.

(Aus dem physiologisch-chemischen Laboratorium von F. Hoffmann-La Roche & Cie.)

(Eingegangen am 20. Mai 1914.)

Mit 15 Figuren im Text.

Überblickt man die in den letzten Jahren so mächtig angeschwollene Literatur über Hypophysenpräparate, erwägt man das allgemeine Interesse und die vielseitige Bearbeitung, die dieses Gebiet gefunden hat, so mag es vielleicht auffallend erscheinen, daß man dem wirksamen Prinzip der Hypophysenextrakte in chemischer Beziehung so wenig nahe getreten ist. Tatsächlich ist man trotz verschiedenen mehr oder weniger eingehenden Arbeiten in der chemischen Erkenntnis kaum viel weiter als es Bell war, der im Jahre 1909 zuerst auf die therapeutische Verwendbarkeit der Hypophysenextrakte hingewiesen hatte.

Bell[1]) äußerte damals schon, wahrscheinlich mit Hinblick auf die eben ermittelte Konstitution des Adrenalins und auf das von Barger und Dale[2]) im Mutterkorn und von Walpole[3]) im faulenden Pferdefleisch aufgefundene p-Oxyphenyläthylamin und Phenyläthylamin, daß

[1]) Bell und Hick, Journ. of Physiol. **1906**. — Bell, Journ. of the Medical Assoc. **1909**.

[2]) Barger und Dale, Über Mutterkorn. Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **61**, 113, 1909.

[3]) Barger und Walpole, Journ. of Physiol. **38**, 349, 1909. — Barger, Isolierung und Synthese des p-Oxyphenyläthylamins, eines in Wasser löslichen Prinzips des Mutterkorns. Journ. chem. Soc. **95**, 1123, 1909. — Dale and Dixon, The action of pressor amines produced by putrefaction. Journ. of Physiol. **39**, 25, 1909.

das wirksame Prinzip des Hypophysenhinterlappens in die Gruppe der Amine zu rechnen sei.

Seither war das Bestreben der physiologischen Chemiker, die sich näher mit dieser Frage befaßt hatten, vor allem darauf gerichtet gewesen, die wirksame Substanz in krystallisiertem Zustande möglichst rein zu gewinnen. Mit Ausnahme von Cyon[1]) der eine lipoidähnliche Substanz isolierte, haben wohl sämtliche Bearbeiter unwillkürlich die Ansicht Bells über die Natur des Hypophysenprinzips angenommen, eine Ansicht, die noch mehr an Wahrscheinlichkeit gewann, als von englischen und deutschen Forschern Barger und Dale[2]), Kutscher und Engeland[3]), Ackermann[4]), Boruttau[5]) verschiedene Amine beschrieben wurden, die in ihrem pharmakologischen Verhalten zum Teil weitgehende Ähnlichkeit mit der Wirkung des Hypophysenextraktes aufwiesen (vgl. z. B. Führer[6]).

Die Isolierung einer spezifisch wirksamen Substanz aus dem Hypophysenextrakt bildet demnach den Grundgedanken für die weitere chemische Bearbeitung. Diese Aufgabe wurde auf verschiedenem Wege zu lösen gesucht.

Houssay[7]) entfernte aus einem wässerigen Infundibularextrakt die Eiweißkörper und andere wirksame Substanzen mittels Bleiacetat. Durch Konzentration des Filtrates gewann er eine krystallisierte Substanz, die das reine Hypophysenprinzip darstellen sollte. Die von ihm isolierte Substanz ist nicht näher beschrieben. Wenn auch durch die Fällung mit Bleiacetat kein erheblicher Verlust an wirksamer Substanz resultieren sollte, so ist es doch kaum wahrscheinlich, daß nach dem angegebenen Verfahren ein einheitliches Produkt gewonnen wird. Salze

---

[1]) E. v. Cyon, Die Verrichtungen der Hypophyse. Erste Mitteilung. Arch. f. d. ges. Physiol. 71, 440, 1898. — Die physiologischen Herzgifte. II. Teil. Ibid. 73, 370, 1898. — Die physiologischen Verrichtungen der Hypophyse. Ibid. 81, 294, 1900.

[2]) Barger und Dale, Chemical structure and sympathomimetic action of amines. Journ. of Physiol. 41, 1910.

[3]) Kutscher und Engeland, Über einige Bestandteile des Extractum secalis cornuti. Centralbl. f. Physiol. 24, 479, 589, 1910. — Kutscher, Die physiologische Wirkung einer Sekalebase und des Imidazolyläthylamins. Centralbl. f. Physiol. 24, 163, 1910.

[4]) Ackermann, Über den bakteriellen Abbau des Histidins. Zeitschr. f. physiol. Chem. 65, 504, 1910. — Ackermann, Über die Entstehung der Fäulnisbasen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 60, 482, 1909. — Ackermann und Kutscher, Über die Aporrhegmen. Zeitschr. f. physiol. Chem. 69, 265.

[5]) H. Boruttau, Über die nächsten Homologen des Adrenins. Verhdl. d. Ges. Deutsch. Naturf. u. Ärzte. Münster 1912, 353.

[6]) H. Führer, Das Pituitrin und seine wirksamen Bestandteile. Münchn. med. Wochenschr. 1912, 853.

[7]) Houssay, Le principe actif des extraits hypophysaires. Revista de la Sociedad Médica Argentina 1911, 268.

sowie sämtliche durch Bleiacetat nicht fällbare Körper müssen dem schließlich isolierten Körper notwendigermaßen beigemengt sein.

Nach einem nicht näher beschriebenen Verfahren arbeiteten Engeland und Kutscher[1]). Sie isolierten neben Cholin und Guanin eine in Wasser leicht lösliche, in Alkohol wenig lösliche organische Base, die weder Biuret, noch Diazo-, noch Millons, noch Tryptophanreaktion gab, durch Phosphorwolframsäure fällbar war und am Uterus kontrahierende Wirkung zeigte.

A. Baudouin[2]) dampft den wässerigen Hypophysenextrakt nach der Enteiweißung in essigsaurer Lösung zur Trockne, kocht mit absol. Alkohol und spricht den aus der alkoholischen Lösung sich abscheidenden weißen Niederschlag als das aktive Prinzip der Hypophyse an. Da er keine weiteren Reinheitskriterien angibt, so ist die Einheitlichkeit auch dieses Produktes sehr zweifelhaft.

Ancel und Bouin[3]) stützen ihre Isolierungsmethode auf die Fällbarkeit des wirksamen Prinzips durch Phosphorwolframsäure. Sie fixieren die Infundibularteile in einem Gemisch aus 1 Teil Alkohol + 1 Teil Äther, in dem sich keine wirksame Substanz löst. Die so behandelten und nachher völlig getrockneten Drüsen werden mit Wasser extrahiert, nach der Neutralisation mit ammoniakalischem Bleiacetat gefällt, der Phosphorwolframsäureniederschlag wird mit Bleioxyd zersetzt. Aus dem konzentrierten Filtrat läßt sich mit Alkohol die freie Base extrahieren und aus der methylalkoholischen Lösung mit Äther als krystallinisches, hygroskopisches Pulver fällen. Eventuell läßt sich die Substanz über das Silbersalz reinigen[4]). Wir werden im experimentellen Teil auf die Unvollkommenheit dieses Verfahrens näher eingehen.

Einen gewissen Abschluß in der Bearbeitung der Hypophysenchemie brachte die Arbeit von Fühner[5])[6]), der die in dem wissenschaftlichen

---

[1]) Engeland und Kutscher, Über einige physiol. wichtige Substanzen. Erste Mitteilung. Zeitschr. f. Biolog. 57, 527, 1912.

[2]) A. Baudouin, Untersuchungen über das aktive Prinzip der Hypophysis. Compt. rend. hebdom. des séances de la Société de biolog. 74, Nr. 20, S. 1138 bis 1140. — „Sur une deuxième méthode d'extraction du principe actif du lobe postérieur hypophysaire." Compt. rend. hebdom. de la Soc. de biol., séance du 24 janvier 1914, No. 30. 1. 14.

[3]) Ancel und Bouin, Sur une deuxième méthode d'éxtraction du principe actif du lobe postérieure hypophysaire. Compt. rend. hebdom. de la Soc. de biol., séance du 24. 1. 14. No. 3, 30. 1. 14.

[4]) Ancel und Bouin, Sur un procédé d'isolement de la substance actife du lobe postérieur hypophysaire. Compt. rend. hebdom. de la Soc. de biol., séance du 17. 1. 14, No. 2, 23. 1. 14.

[5]) H. Fühner, Pharmakol. Untersuchungen über die wirksamen Bestandteile der Hypophyse. Zeitschr. f. d. ges. experim. Med. 1, H. 5, S. 397 bis 443.

[6]) D. R. P. Nr. 268841 Kl. 30[h]. Verfahren zur Darstellung des in den Hypophysen enthaltenen therapeutisch-wirksamen Bestandteilen in krystallisierter Form.

Laboratorium der Farbwerke vorm. Meister Lucius & Brüning, Höchst a. M. erhaltenen Resultate gleichzeitig mit seinen pharmakologischen Ergebnissen publizierte. Nach dieser Untersuchung sind im Hypophysenextrakt nicht weniger als 8 Substanzen nachgewiesen worden, wovon vier mit Phosphorwolframsäure fällbar sind und für die pharmakologische Wirkung (Wirkung auf den Blutdruck, Uterus, Respiration) vorzugsweise in Betracht kommen. Vier weitere, weniger oder kaum aktive Substanzen finden sich im Filtrat des Phosphorwolframsäureniederschlages.

Die vier aktiven, mit Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen wurden durch fraktionierte Krystallisation voneinander getrennt, drei davon geben positive Paulysche Reaktion sowie Biuretreaktion. Sie drehen das polarisierte Licht nach links; eine vierte Substanz gibt weder Paulysche noch Biuretreaktion und ist rechtsdrehend. Die isolierten Substanzen sind basischer oder neutraler Natur. Im Gesamteffekt dieser vier mit Phosphorwolframsäure fällbaren Substanzen sollte die pharmakologische Wirksamkeit des Extraktes bedingt sein. Nach einem andern ebenfalls von den Höchster Farbwerken patentierten Verfahren[1]) wird der von Eiweiß befreite Extrakt der Hypophyse mit Quecksilbersulfat gefällt, der Niederschlag zersetzt, die Zersetzungsflüssigkeit zur Trockne gebracht und als wirksames Prinzip angesprochen.

Das Ergebnis dieser eingehenden, durch pharmakologische Experimente am Uterus, am Blutdruck und Respiration gestützten Untersuchung bot gewissermaßen eine Enttäuschung dar.

Das Studium der Nebennierenextrakte, das mit der Isolierung des Adrenalins abgeschlossen wurde, hätte ein ähnliches Resultat bei der Hypophyse erwarten lassen. Nach der Publikation Fühners schien das wenigstens nicht in dem Sinne der Fall zu sein, daß eine spezifische Substanz in der Hypophyse gebildet wird, sondern daß verschiedene Substanzen basischer Natur als Produkte der inneren Sekretion der Hypophyse abgegeben werden.

In dieser Arbeit sind aber wichtige Punkte nicht berücksichtigt worden. Bei der Anwendung des beschriebenen Verfahrens der Fällung mit Phosphorwolframsäure bzw. mit Quecksilbersulfat schlägt man, wie die Resultate der Eiweißforschung sowie das Studium der Fäulnisbasen (vgl. die Arbeiten von Kossel[2]), Kutscher[3]), Lohmann, Acker-

---

[1]) D. R. P. Nr. 26419 Kl. 30^{h}. Verfahren zur Darstellung einer hochwirksamen Substanz aus Hypophysenextrakten.

[2]) Vgl. z. B. Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. **25**, 197; **66**, 257.

[3]) Kutscher und Lohmann, Der Nachweis toxischer Basen im Harn. I. bis IV. Mitteilung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **48**, 1, 422, 1906; **49**, 81, 88; **51**, 457, 1907.

mann[1]) gelehrt haben, wahllos fast sämtliche basischen Produkte nieder, die sich in der wässerigen Lösung vorfinden. Cholin, Histidin, speziell die basischen Aminosäuren sowie höher molekulare Eiweißspaltprodukte (Peptone), vor allem aber auch Amine und Ammoniak selbst, werden durch Phosphorwolframsäure gefällt.

Bei der Verarbeitung von Organextrakten hat man aber mit dem Vorhandensein solcher Produkte stets zu rechnen. Wenn man die Enteiweißung der Organextrakte durch Dialyse bewerkstelligt, wie dies aus der Patentbeschreibung der Höchster Farbwerke ersichtlich ist, so hat man neben dialysablen Autolysenprodukten bei längerer Dialysedauer auch mit den sekundären Abbauprodukten, die durch bakterielle Tätigkeit entstehen, zu rechnen. Zusätze von Toluol und Chloroform vermögen ja keine vollständige Sterilisation herbeizuführen.

So ist das Vorkommen von p-Oxyphenyläthylamin, das Emerson[2]) im selbstverdauten Pankreas zuerst nachgewiesen hat, wahrscheinlich auch auf bakterielle Tätigkeit zurückzuführen.

Wir haben außerdem beim Studium der Organextrakte die Beobachtung gemacht, daß, wenn man diese in absolut frischem Zustand direkt dem Tier entnommen, verarbeitet, man stets in mehr oder weniger größeren Mengen verschiedene Aminosäuren in freiem Zustand isolieren kann. Auch ist es uns im Laufe unserer Untersuchungen höchst wahrscheinlich geworden, daß die verschiedenen Organextrakte, Lunge, Milz, Darm Pankreas usw., ein Gemisch von Aminen enthalten, ein Gedanke, den ich[3]) kürzlich in einem Sammelreferat über proteinogene Amine zum Ausdruck gebracht habe. Beweise für diese An-

---

[1]) Ackermann, Ein Beitrag zu der Chemie der Fäulnis. Zeitschr. f. physiol. Chem. **54**, 1. — Ein Fäulnisversuch mit Arginin. Ibid. **56**, 305. — Über eine neue Base mit gefaultem Pankreas. Ibid. **57**, 28. — Über die Entstehung von Fäulnisbasen. Ibid. **66**, 482.

[2]) Emerson, Über das Auftreten von p-Oxyphenyläthylamin bei Pankreasverdauung durch fermentative CO_2-Abspaltung. Beiträge z. chem. Physiol. u. Phathol. **1**, 501, 1902. Vgl. auch Langstein, Zur Kenntnis der Endprodukte der pept. Verdauung. Ibid. **1**, 507 bis 523. — Frank und Schittenhelm, Über die Brauchbarkeit tief abgebauter Eiweißpräparate für die Ernährung. Therap. Monatsh. **25**, 1911; **26**, 1912. — Oehme, Über die Verwertung intravenös zugeführter Eiweißabbauprodukte im Stoffwechsel. 1. Mitteilung. Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 312.

[3]) Guggenheim, Proteinogene Amine. Therap. Monatsh. **27**, Juli 1913.

sichten sind außerdem verschiedene Arbeiten, in denen die Toxizität bzw. die pharmakologischen Eigenschaften von Organextrakten beschrieben worden sind. Wir verweisen z. B. auf die Arbeit von Aronson[1]), der im eiweißfreien Lungenextrakt eine Imidazolyläthylamin-ähnlich wirkende Substanz nachgewiesen hat. Ferner ist es Barger und Dale[2]) gelungen, aus einem Extrakt der Darmschleimhaut Beta-Imidazolyläthylamin zu isolieren. Auch das Hormonal Zuelzers[3]) dürfte nach seiner Darstellungsweise, seiner Wirkung und seinen chemischen Eigenschaften vorzugsweise ein Gemisch proteinogener Amine sein.

Nach unserer Ansicht hat man also bei der Verarbeitung eines wässerigen Extraktes der Infundibularteile mit dem Vorhandensein von Ammoniaksalzen, von Aminosäuren, von proteinogenen Aminen zu rechnen, die zum Teil als solche im Organ vorhanden sind, zum Teil auch durch sekundäre Prozesse (Autolyse, bakterielle Tätigkeit) entstehen. Bei der Isolierung einer eventuell vorhandenen spezifischen Substanz muß man demnach die Existenz dieser Produkte in Betracht ziehen.

Bei der Anwendung so wenig spezifischer Fällungsmittel wie Phosphorwolframsäure und Quecksilbersalze sind aber diese Produkte nicht ausgeschlossen. Sie werden je nach den Fällungsbedingungen mehr oder weniger vollständig in die Fällungen eingehen. Bei der nachherigen Zersetzung der Phosphorwolframsäure- bzw. der Quecksilbersalze dürfte es sehr schwer sein, diese Produkte mit ähnlichen Löslichkeitsverhältnissen voneinander sowie von der spezifischen Substanz abzutrennen, und man wird immer mit einer Verunreinigung durch nichtspezifische proteinogene Amine oder Aminosäuren zu rechnen haben.

Zwar hat uns die Pharmakologie ein Mittel gegeben, um diese nichtspezifischen Abbauprodukte von den spezifischen Produkten der Hypophyse zu unterscheiden. Wir denken an die charakteristische Wirkung des Hypophysenextraktes auf Uterus, Blutdruck, Respiration, Darmperistaltik, wie sie in einer Reihe von Arbeiten gründlich beschrieben worden ist.

---

[1]) Aronson, Über die Giftwirkung normaler Organ- und Muskelextrakte. Berliner klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 56.

[2]) Barger und Dale, Journ. of Physiol. **41**.

[3]) G. Zuelzer, Über Kollapswirkung des Hormonals. Deutsche med. Wochenschr. 1912, Nr. 26.

Aber auch hier muß man eine Auslese treffen zwischen den spezifischen pharmakologischen Eigenschaften des Hypophysenextraktes und denen, die in mehr oder minderem Grade jeder andere Organextrakt zeigt. Wir haben wiederholt feststellen können, daß verschiedene, möglichst von Eiweiß befreite Organextrakte sowohl eine geringe Wirkung auf den Blutdruck wie auch ausgesprochene Wirkung auf die Darmperistaltik und mehr oder minder ausgeprägte Uteruswirkung besitzen. Schickele[1]) und Lindemann[2]) sind zu ähnlichen Befunden gelangt. Wenn man also die pharmakologische Methodik zu der chemischen Bearbeitung der Hypophysenfrage herbeizieht, muß man sich entscheiden, welche Wirkung man als spezifisch für die Hypophysenextrakte ansprechen will.

Die auffallendste und sicher sehr charakteristische Wirkung des Hypophysenextraktes ist die von Fühner und später auch von anderen Autoren (Guggenheim[3]) Boruttau[4]) beschriebene Wirkung auf den Blutdruck und auf die Respiration. Eine primäre kurze Steigerung des Blutdrucks ist gefolgt von einer ausgeprägten Senkung, die kurze Zeit andauert. Hierauf steigt der Blutdruck stark an; ehe er die maximale Höhe erreicht, setzen mächtige Herzpulse ein, der Blutdruck bleibt längere Zeit über die Norm erhöht. Mit diesen Blutdruckveränderungen geht eine typische Beeinflussung der Respiration parallel. Eine charakteristische Pituglandolwirkung sieht man z. B. in Fig. 1 (S. 203). Diese Wirkung ist auch von Fühner als typisch beschrieben worden. Sie kommt in ähnlicher Weise dem Imidazolyläthylamin zu, unterscheidet sich aber von dieser Wirkung in manchen Punkten, namentlich aber dadurch, daß eine zweite Injektion eine bedeutend abgeschwächte und modifizierte Wirkung hervorruft. Die Respirationswirkung fehlt ganz, die Senkung ebenfalls, Imidazolyläthylamin zeigt auch bei wiederholten Injektionen ein kaum verändertes Wirkungsbild.

---

[1]) Schickele, Wehenerregende Substanzen und innere Sekretion. Centralbl. f. d. ges. Med. **24**, 880.

[2]) Lindemann, Natur und Verbreitung wehenerregender Substanzen im Körper. Deutsche med. Wochenschr. **1913**, Nr. 40, S. 2017.

[3]) Guggenheim, Beitrag zur Kenntnis der Wirkung von Hypophysenextrakten (Pituglandol). Med. Klinik **1913**, Nr. 19.

[4]) Boruttau und Niculescu, Über die Beziehungen der physiologischen Wirkungen von Hypophysenextrakt, Adrenin, Imidazolyläthylamin. Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Therap. **15**, 1 bis 12, 1914.

Es ist uns gelungen, noch eine weitere, bis jetzt für die Pituglandolsubstanz als spezifisch anzuerkennende Reaktion aufzufinden. Das ist die tonussteigernde Wirkung auf den Rattenuterus (vgl. Guggenheim[1]), Führer[2]). Während verschiedene proteinogene Amine am Uterus von Kaninchen, Meerschweinchen und Katzen ebenfalls wie das Pituglandol Tonussteigerung hervorrufen, zeigte sich, daß der Rattenuterus in dieser Beziehung als differentiell-diagnostisches Testobjekt funktioniert. p-Oxyphenyläthylamin, Imidazolyläthylamin, Secacornin rufen eine ausgesprochene Lähmung des Rattenuterus hervor, während Pituglandol auch in ganz kleinen Dosen noch eine deutliche Tonussteigerung bedingt. Darf man also die Wirkung am Meerschweinchen-, Kaninchen- und Katzenuterus nur mit einigem Vorbehalt als spezifische Pituglandolwirkung ansprechen, so kann man wenigstens bis auf weiteres die tonussteigernde Wirkung am Rattenuterus als spezifische Wirkung des Hypophysenprinzips betrachten.

Führer hat bei der pharmakologischen Prüfung der im Höchster Laboratorium isolierten Fraktionen neben der Blutdruck- und Respirationswirkung die Wirkung am Uterus von Kaninchen, Meerschweinchen und Katzen studiert. Ich möchte es aus den angegebenen Gründen empfehlen, unbedingt auch den Rattenuterus als kritischeres Testobjekt anzuwenden.

Wir haben uns in unserem Laboratorium seit längerer Zeit eingehend mit der Chemie der wirksamen Hypophysensubstanz beschäftigt und sind schließlich zu einem Resultat gelangt, das von dem Führers in einem wesentlichen Punkte differiert, nämlich in dem, daß wir schließlich doch zu der Ansicht gelangt sind, daß im Hypophysenextrakt neben weniger wichtigen proteinogenen Aminen eine spezifische Substanz vorkommt, welche einerseits die obenerwähnten spezifischen Wirkungen des Hypophysenextrakts am Rattenuterus, Blutdruck und Respiration bedingt und auch ganz charakteristische chemische Eigenschaften besitzt.

Schon in der Führerschen Publikation findet sich im chemischen Teil eine gewisse Alkaliunbeständigkeit der Hypo-

[1]) Guggenheim, Zur Kenntnis der Wirkung von p-Oxyphenyläthylamin. Therap. Monatsh. 26, November 1912.

[2]) Führer, Therap. Monatsh. 27, 1913.

physensubstanz erwähnt, indem bemerkt ist, daß die wirksamen Bestandteile auf Zusatz von Natronlauge ein flüchtiges Amin (Methylamin?) entweichen lassen. Es steht zwar nicht erwähnt, ob mit dieser Alkalizersetzung auch eine Inaktivierung des Hypophysenextrakts parallel geht. Wir haben nun nachweisen können, daß die wirksamen Hypophysenextrakte in der Tat eine große Alkaliempfindlichkeit besitzen. Bei unseren chemischen Untersuchungen, die wir durch die vorerwähnten pharmakologischen Versuche kontrollierten, war es uns stets aufgefallen, daß bei gewissen Reaktionen, wo Natronlauge verwendet wurde, immer eine mehr oder weniger vollständige Inaktivierung stattfand. Indem wir der Reihe nach sämtliche in Betracht kommenden Faktoren untersuchten, fanden wir schließlich, daß die Alkalinität die einzige Ursache dieser Inaktivierung sein könne.

Wir haben frische Hypophysenextrakte direkt mit Alkali versetzt und wieder neutralisiert und auch bei sehr verdünnten Alkalinitätsgraden stets eine völlige Inaktivierung beobachtet, und zwar fand diese statt sowohl bei Verwendung von Natronlauge und Kalilauge wie auch von Barythydrat. Die Inaktivierung erfolgte schon nach kürzester Zeit nach 1 bis 2 Stunden und bei Zimmertemperatur. Eine Inaktivierung erfolgte jedoch nicht, wenn man mit Soda oder Bicarbonat versetzte.

Als chemische Erklärung dieser großen Alkaliempfindlichkeit könnte man folgende chemische Reaktionen in Betracht ziehen:

1. Oxydation einer in alkalischer Lösung sehr empfindlichen Substanz. Wir dachten z. B. an die große Empfindlichkeit des Adrenalins in alkalischer Lösung;

2. Abspaltung von Methylamin von einem sekundären oder tertiären Amin. Auch hier hatten wir den Fall des Adrenalins im Auge.

$$\begin{array}{l} HO \\ HO \end{array} \bigcirc \begin{array}{l} CHOH.H_2C.NH.CH_3 \\ \qquad\qquad\quad OH\ H \end{array} \qquad \begin{array}{l} HO \\ HO \end{array} \bigcirc \begin{array}{l} CHOH.CH_2OH \\ + CH_3NH_2, \end{array}$$

wo im Sinne vorstehender Formulierung Methylaminabspaltung möglich wäre;

3. könnte man noch andere Ringaufspaltungen in Betracht ziehen; wir dachten z. B. an den ziemlich empfindlichen Imidazolring, der sich mit Alkali und Benzoylchlorid (vgl. Bam-

berger[1]), Gerngroß[2]) sowie mit Alkali und Jodalkyl (vgl. O. Fischer[3]) sehr leicht aufspaltet;

4. wäre an die Verseifung eines Esters oder eines Amids zu denken;

5. wäre es möglich, daß ein aktives Lacton oder Acylderivat durch Aufspaltung bzw. Abspaltung des Acylrestes in ein inaktives Produkt übergeht.

Wir haben nun diese verschiedenen Möglichkeiten studiert und gefunden

Ad 1 und 2,

daß das Adrenalin bei ganz analoger Behandlung wie Pituglandol nicht inaktiviert wird. Die Fälle 1 und 2 dürfte man also ausschließen.

Ad 3.

Imidazolyläthylamin erwies sich ebenfalls alkalibeständig, wie dies auch schon Friedberger[4]) festgestellt hatte. In dieser Hinsicht unterscheidet sich also das Pituglandol abermals von Imidazolyläthylamin.

Ad 4.

Hierbei führte uns die Überlegung, es möchte der Organismus zur Überführung inaktiver amphoter reagierender Aminosäuren in aktiv basische Substanzen nicht bloß den einen Weg der Decarboxylierung besitzen, wie er z. B. in der Umwandlung von Histidin in Beta-Imidazolyläthylamin vorgezeichnet ist, sondern daß er imstande ist, die inaktivierende Carboxylgruppe auch in anderer Weise festzulegen, ohne sie direkt abspalten zu müssen, indem er sie nämlich mit einer Alhohol- oder Ammoniakgruppe zu einem Ester bzw. zu einem Amid verankert, ein Vorgang, der sich in folgenden Formeln illustriert:

---

[1]) Bamberger und Berlé, Aufspaltung des Imidazolrings. Annal. d. Chem. **273**, 342, 1893.

[2]) Gerngroß, Über den Reaktionsmechanismus bei der Aufspaltung von Imidazolderivaten durch Benzoylchlorid und Alkali. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **46** (1903), 1913.

[3]) O. Fischer, Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 930, 4202; **35**, 1258; **36**, 3967; **37**, 552; **38**, 320.

[4]) Friedberger und Moreschi, Über Anaphylatoxie. Berl. klin. Wochenschr. **16**, 741, 1912.

$$R.CH_2CH(NH_2).COOH \nearrow R.CH_2.CH(NH_2).COOR \text{ (Ester)}$$
Aminosäure (inaktiv)
$$\searrow R.CH_2(CH_2)NH_2.CONH_2, \text{ (Amid)}$$

wo R irgendein Radikal bedeutet.

Eine ähnliche Fragestellung haben sich schon früher **Barger** und **Dale** gesetzt, als sie bei ihrem grundlegenden Studium der sympathomimetischen Amine Tyrosinäthylester prüften. Sie hatten ihn ohne wesentliche Wirksamkeit auf den Blutdruck gefunden. Auch wir haben uns durch Vergleich der Wirkung von Histidin und dessen Estern überzeugt, daß die bloße Esterifizierung keine bemerkenswerte Aktivitätssteigerung bedingt. Eine amidartige Bindung des Carboxyls realisierten wir durch Herstellung des Histidinanhydrids (**Pauly**[1]).

```
      CH
     /  \\
   HN    N
    |    |
   HC====C—CH2.CH—CO              CH
              /     \           //  \
            NH       NH        N    NH
              \     /          |    |
               CO.CH—CH2—C====CH.
```

Auch diese Substanz besaß gegenüber Histidin keine gesteigerte sympathomimetische Wirksamkeit.

So blieb schließlich nur noch die fünfte Frage zu entscheiden: Liegt im Pituglandolprinzip ein in alkalischer Lösung leicht spaltbares Lacton- oder Acylderivat vor? Ein chemisches Analogon für den ersteren Fall bot die Umwandlung des Pilocarpins in Pilocarpinsäure:

```
CH3.CH2.CH—CH—CH2—C—N—CH3
        |   |      ||  \
        |   |      ||   CH
        CO  CH2    HC—N/
         \O/
            H OH
```
Pilocarpin.

```
CH3.CH2.CH——CH—CH2.C——N—CH3
        |    |      ||   \
        |    |      ||    CH
     COOH  CH2OH   CH—N//
```
Pilocarpinsäure.

---

[1]) H. Pauly, Über einige Verbindungen des Histidins. Zeitschr. f. physiol. Chem. **64**, 75.

Diese von Petit und Polonowska[1]) aufgefundene Reaktion ist meines Wissens pharmakologisch noch nicht studiert worden. Ich konnte nun nachweisen, daß der in alkalischer Lösung erfolgenden Aufspaltung des Pilocarpins in der Tat eine völlige oder fast völlige Inaktivierung parallel geht. Sowohl die Wirkung auf den Vagus wie auch die charakteristische Wirkung auf das autonome Nervensystem erscheinen vollständig annulliert.

Diese am Pilocarpin gemachte Feststellung verdient an und für sich vielleicht schon ein ziemliches Interesse. Zeigt sich doch hier, daß schon eine so wenig eingreifende Reaktion wie Wasseranlagerung an ein Molekül die vollständige Entgiftung einer toxischen Substanz herbeiführen kann. Ein reziprokes Analogon hierzu besitzen wir ja auch in der Umwandlung des Ergotins in Hydroergotinin (F. Kraft[2]). Hier bedingt die Wasseranlagerung die Umwandlung einer nicht giftigen Substanz in eine toxische. Es mag der Überlegung wert erscheinen, ob der Organismus sich vielleicht bei seinen Immunisierungsprozessen ähnlicher einfacher Reaktionen bedient, um toxische Produkte in nicht giftige zu überführen.

Aber ganz abgesehen von diesen theoretischen Erwägungen bot diese Beobachtung auch mit Rücksicht auf unser Problem, die Aufklärung der Konstitution der wirksamen Hypophysensubstanz, eine Handhabe, indem die Erwägung nahegelegt wurde, ob die spezifisch wirksame Hypophysensubstanz nicht einen lactonähnlichen Bau aufweist und vielleicht überhaupt in ihrer Konstitution dem Pilocarpin nahesteht. Diese Erwägung war um so eher gerechtfertigt, als ja auch das Pilocarpin einen Imidazolring enthält und man schon früher (wir verweisen auf die Arbeit von Fühner) auf die weitgehende Ähnlichkeit der Imidazolyläthylaminwirkung und der Hypophysenwirkung hingewiesen hatte. Während aber Pilocarpinsäure durch Erwärmen in saurer Lösung wieder reaktiviert werden konnte, gelang dies mit dem durch Alkali inaktivierten Pituglandol nicht. Das Vorhandensein eines Lactonringes er-

[1]) A. Petit und M. Polonowska, Beitrag zum Studium des Pilocarpins und Pilocarpidins. Journ. Pharm. et Chim. (6) **5**, 475; Bull. de la Soc. de Chim. **17**, 553.

[2]) F. Kraft, Über das Mutterkorn. Arch. d. Pharmazie **244**, 336

schien dadurch einigermaßen fraglich, wenn auch nicht ausgeschlossen.

Soweit waren die Versuche abgeschlossen, als im Aprilheft des Journal of Physiology eine vorläufige Mitteilung (H. H. Dale[1]) auf die interessanten Eigenschaften des Acetylcholins aufmerksam machte. Da nun noch zu entscheiden war, ob die irreversible Inaktivierung des Pituglandols auf der Abspaltung einer Acylgruppe beruht, haben wir auch das Acetylcholin in den Bereich unserer Untersuchungen gezogen.

Hat schon das Pilocarpin auffallende Analogien mit dem Pituglandol gezeigt, so bot das Acetylcholin in pharmakologischer und chemischer Hinsicht noch mehr Ähnlichkeiten dar. Zunächst konnten wir in Bestätigung des von Dale gemachten Befundes feststellen, daß Acetylcholin eine ausgesprochene Blutdrucksenkung verursacht, die sehr an die nach Pituglandolinjektion erfolgende primäre Blutdrucksenkung erinnert. Ferner besitzt die Substanz eine Wirkung auf die Atmung und bewirkt am Rattenuterus wie Pituglandol Tonussteigerung. Alle diese Effekte gehen bei kurzem Stehen mit Alkali fast völlig verloren. Respirationswirkung und Wirkung auf den Rattenuterus verschwinden ganz, die Wirkung auf den Blutdruck nahezu vollständig. Da dieser Inaktivierung eine Spaltung des Acetylcholins in Cholin und Essigsäure zugrunde liegt, ist natürlich eine Reaktivierung in saurer Lösung ausgeschlossen.

Das Acetylcholin zeigt demnach in chemischer und pharmakologischer Hinsicht am meisten Ähnlichkeit mit der Pituglandolsubstanz. Wenn schon die pharmakologische Wirkung in einigen wesentlichen Punkten von der des Pituglandols differiert — es fehlt die nach der primären Senkung eintretende Steigerung des Blutdrucks, es fehlen die starken Vaguspulse, die refraktären Erscheinungen bei einer 2. und 3. Injektion —, so stehen wir nicht an, die beobachteten Analogien zu Rückschlüssen auf die Konstitution des Pituglandolprinzips zu benutzen und in diesem die ätherartige Verbindung eines Alkanolamins mit einem Acylrest zu vermuten.

---

[1]) H. H. Dale, The occurence in ergot and action of acetylcholine. Journ. of Physiol. 48, H. 1.

Experimenteller Teil.

Pituglandol und Alkali.

Wie im allgemeinen Teil angeführt wurde, hatte sich bei der chemischen Bearbeitung die Notwendigkeit ergeben, zu untersuchen, inwieweit Änderung der chemischen Reaktion die Aktivität des Hypophysenextrakts zu beeinflussen vermag. Als Kriterium für die Wirksamkeit der Extrakte benutzten wir stets die früher beschriebene Wirkung auf Blutdruck und Respiration sowie die tonussteigernde Wirkung am Rattenuterus. Vgl. Kurven 1 und 2.

Es war uns bereits aus früheren Versuchen bekannt, daß verdünnte Säuren wenigstens in der Kälte die Aktivität des Pituglandols kaum ändern. Konzentrierte Säuren inaktivieren den Extrakt vollständig mit Bezug auf Blutdruck-, Respirations- und Uteruswirkung. Die tonussteigernde Wirkung auf den Darm hingegen bleibt erhalten (Fig. 3).

Bei der Einwirkung von konz. Salzsäure in der Kälte zeigte sich dabei eine charakteristische Rot- bis Violettfärbung, die längere Zeit beständig ist, schließlich aber verblaßt. In der Wärme bildet sich ein braunes Pigment.

Viel empfindlicher jedoch erwies sich das Pituglandol gegen Alkali.

1 ccm Pituglandol 100 $^0/_0$ ig entsprechend 1 g frischem Infundibularteil, mit 1 ccm 2 n-Natronlauge versetzt, wurde 2 Stunden bei Zimmertemperatur gelassen, darauf mit Salzsäure neutralisiert und auf 10 ccm verdünnt. 1 ccm dieses mit Alkali behandelten und neutralisierten Extraktes wurde einem mittelgroßen Kaninchen in die Femoralis injiziert. Bei der graphischen Registrierung des Carotisblutdrucks und der Respiration zeigte sich dieses Präparat wirkungslos. Die Injektion dieses Extraktes „immunisierte“ nicht gegen nachfolgende Injektion von Pituglandol, dieses entfaltete im Gegenteil seine volle Wirkung.

Der durch Alkali in seiner Blutdruck- und Respirationswirkung inaktivierte Extrakt erwies sich auch am Rattenuterus fast unwirksam, vgl. Fig. 5.

Am Darm jedoch ist das alkalibehandelte Pituglandol fast ebenso aktiv wie ein normales Pituglandol.

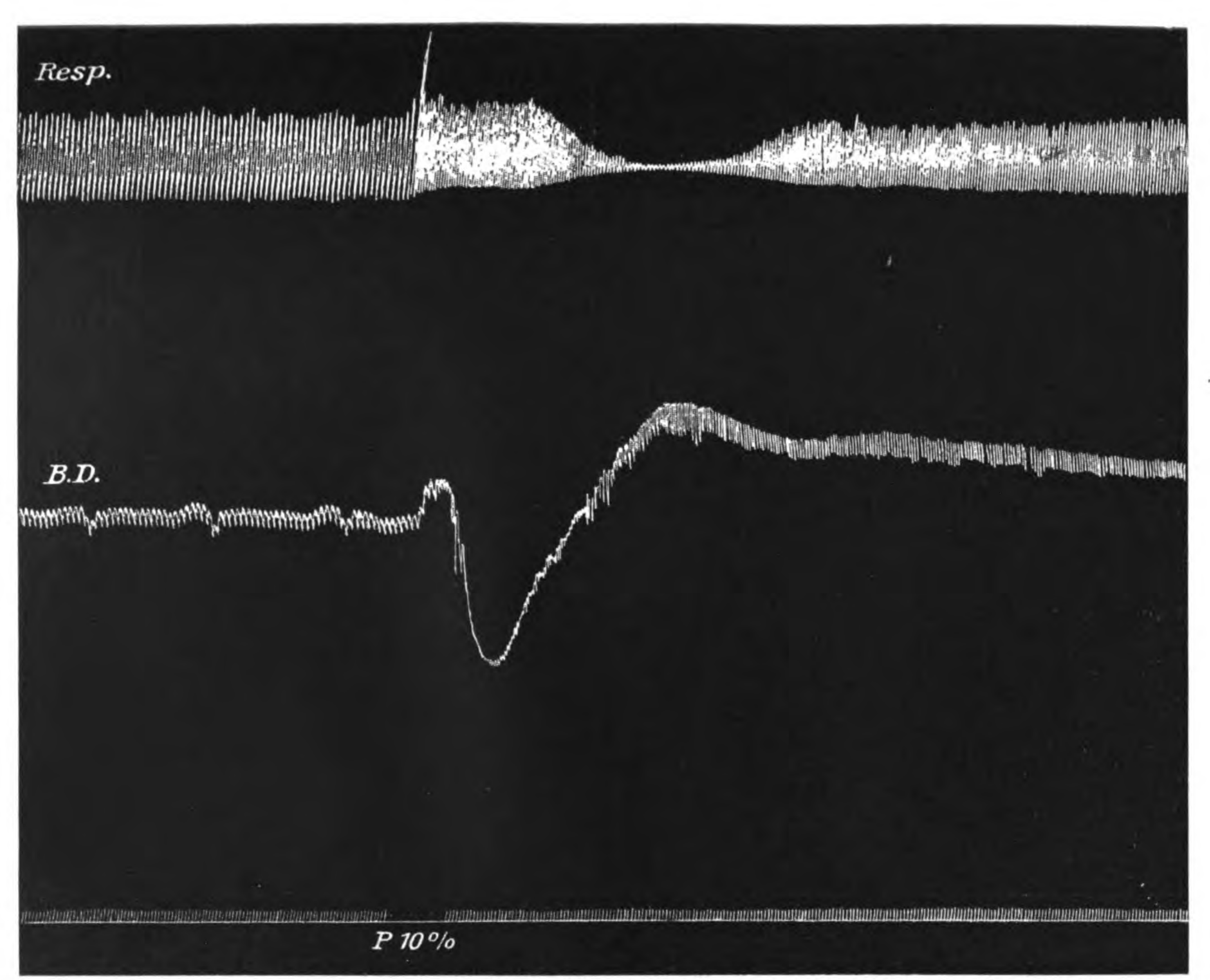


Fig. 1. Wirkung von 1 ccm Pituglandol 10%ig auf Blutdruck und Respiration des Kaninchens.

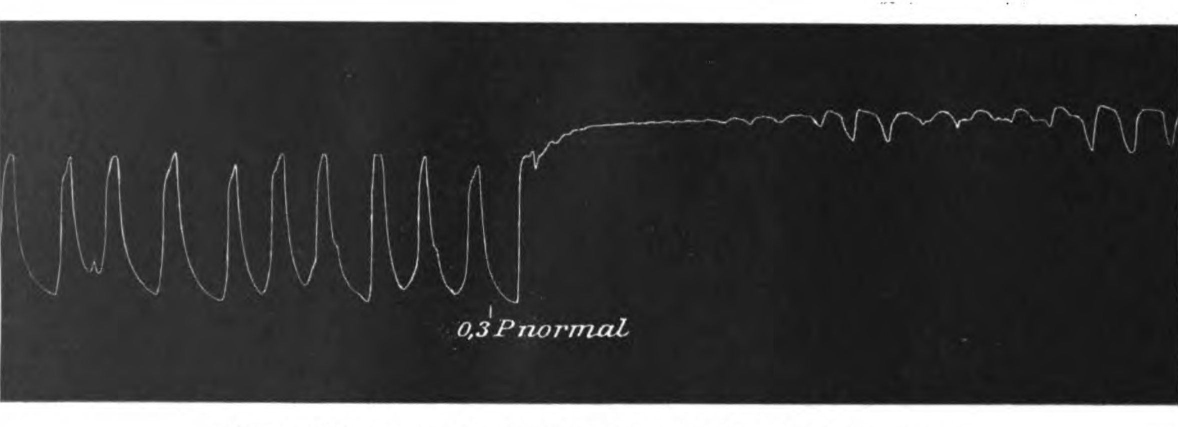


Fig. 2. Wirkung von Pituglandol auf den überlebenden Rattenuterus.

0,2 P_{HCl} a

a) 0,2 ccm hydrolysiertes Pituglandol.

Fig. 3. Wirkung von mit normaler Salzsäure total hydrolysiertem Pituglandol 10%ig auf den in 100 ccm Ringer suspendierten überlebenden Darm.



b) 0,2 ccm normales Pituglandol.

Durch die vorstehenden Versuche ist bewiesen, daß die Substanz, welche die charakteristische Blutdruckänderung hervorruft, auch die Komponente ist, welche die therapeutische Uteruswirkung besitzt. Hingegen ist die Wirkung am überlebenden Darm kein Indicator für die Aktivität eines Hypophysenextraktes. Ein Hypophysenextrakt kann am Darm vollwertig erscheinen und trotzdem die spezifische Substanz völlig entbehren. Die Darmwirkung ist offenbar nicht durch die spezifische Hypophysensubstanz bedingt, sondern durch alkali- und säurebeständige proteinogene Amine, die sich neben der eigentlichen Hypophysensubstanz vorfinden, bzw. aus ihr entstehen.



Fig. 4. Wirkung von inaktiviertem Pituglandol auf Blutdruck und Respiration.

Ein große Labilität der Hypophysenextrakte bestand auch gegenüber anderen Alkalien. 1 ccm 100 %iges Pituglandol in 2 ccm kalt gesättigter Barytlösung (ca. 5 %ig) 3 Stunden bei Zimmertemperatur belassen, durch verdünnte Schwefelsäure von Barium befreit, filtriert und auf 10 ccm gebracht, war völlig unwirksam.

In einem weiteren Versuch wurde $10\,^0/_0$iges Pituglandol mit überschüssigem Bleioxyd geschüttelt und der Bleioxydniederschlag sowie das Filtrat mit Schwefelwasserstoff zersetzt und die Wirkung der Zersetzungsflüssigkeit auf Blutdruck und Uterus geprüft. Es ergab sich völlige Inaktivität beider Fraktionen.

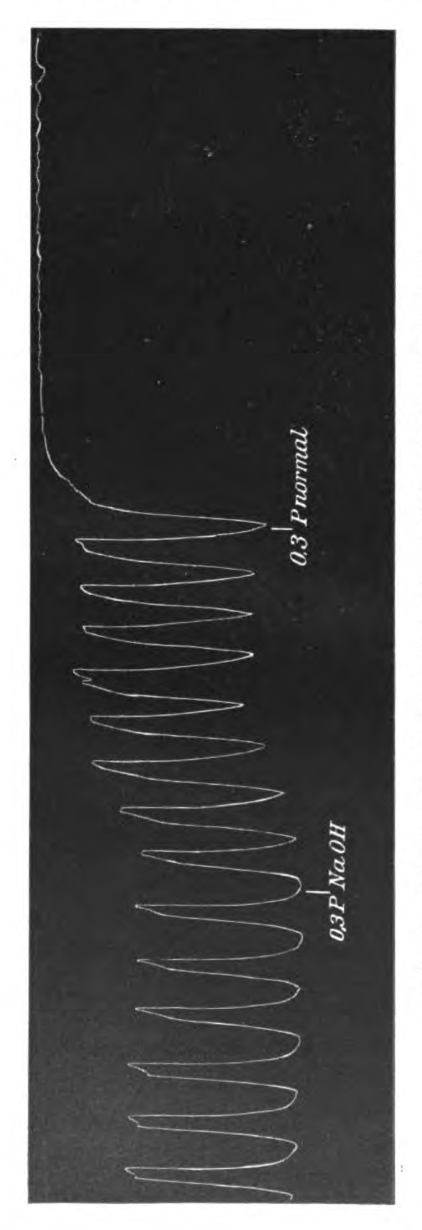


Fig. 5. Wirkung von inaktiviertem Pituglandol auf den Rattenuterus.
a) 0,3 ccm inaktiviertes Pituglandol. b) 0,3 ccm aktives Pituglandol.

Das Verhalten gegen Bleioxyd erklärt uns auch, warum mit dem eingangs beschriebenen Verfahren von Ancel und Bouin bedeutend geschwächte Extrakte erhalten werden. Ancel und Bouin schreiben selbst: „Diese Methode besitzt einen großen Nachteil: man verliert unvermeidlich eine große Menge des aktiven Prinzips und erhält schließlich ein Präparat, das nach und nach seine physiologische Aktivität vermindert. Auch ist es notwendig, nach dem Fällen mit Bleiacetat so rasch als möglich zu arbeiten. Alle Operationen müssen von diesem Moment an in einem Tag beendet werden.“

Wir haben das Verfahren von Ancel und Bouin hier nachgeprüft und sind zu dem-

selben Resultat gelangt. Der schließlich erhaltene, als reines Prinzip ausgesprochene Körper besitzt nur geringe Wirkung auf Blutdruck und Uterus, er ist größtenteils inaktiviert.

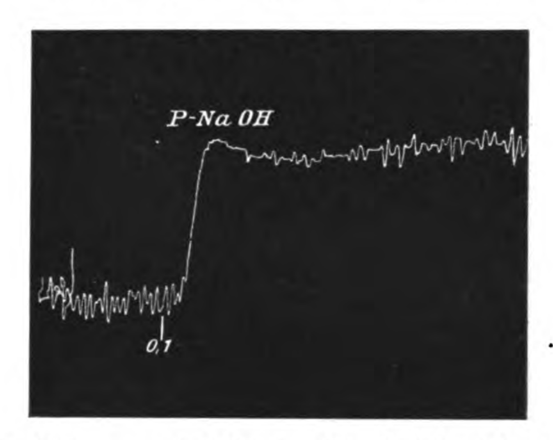


Fig. 6. Wirkung von inaktiviertem Pituglandol auf den Darm.

Adsorptionsfähigkeit des Pituglandols.

Spezielle Untersuchungen haben nun gezeigt, daß der durch Behandlung von PbO hervorgerufenen Inaktivierung weniger ein chemischer als ein physikalischer Vorgang zugrunde liegt. Es macht sich nämlich hier die auffallende Adsorptionsfähigkeit des wirksamen Prinzips geltend. Dieses wird offenbar in die große Masse der entstehenden Bleisulfidniederschläge mitgerissen und kann durch nachheriges Auswaschen mit Wasser nur unvollständig wieder in Lösung gebracht werden. Hierfür bieten folgende zwei Versuche eklatante Beweise.

50 ccm 10%iges Pituglandol wurden mit 20 ccm neutraler Bleiacetatlösung versetzt, sodann mit Schwefelwasserstoff behandelt und der entstandene Niederschlag mit H_2S-haltigem Wasser ausgewaschen, bis das Volumen der Waschflüssigkeit 500 ccm betrug. Die schließlich im Vakuum auf 50 ccm gebrachten neutralisierten Filtrate zeigten gegenüber normalem Pituglandol eine erheblich herabgeminderte Wirksamkeit.

100 ccm 10%iges Pituglandol wurde einige Stunden mit 10 g Talcum geschüttelt, sodann filtriert und der Filterrückstand auf 1 l ausgewaschen. Das auf 100 ccm konz. Filtrat zeigte sich am Rattenuterus nahezu unwirksam.

Die vorstehend beschriebenen inaktivierenden Momente, 1. Behandlung mit Alkali, 2. Adsorptionserscheinung, machen sich auch bei verschiedenen anderen, im allgemeinen Teil beschriebenen Isolierungsverfahren geltend.

Behandelt man jedoch das Pituglandol analog wie in den vorhergehenden Versuchen mit 2 n-Na_2CO_3 oder 2 n-$NaHCO_3$, so bleibt die Aktivität des Extraktes völlig erhalten.

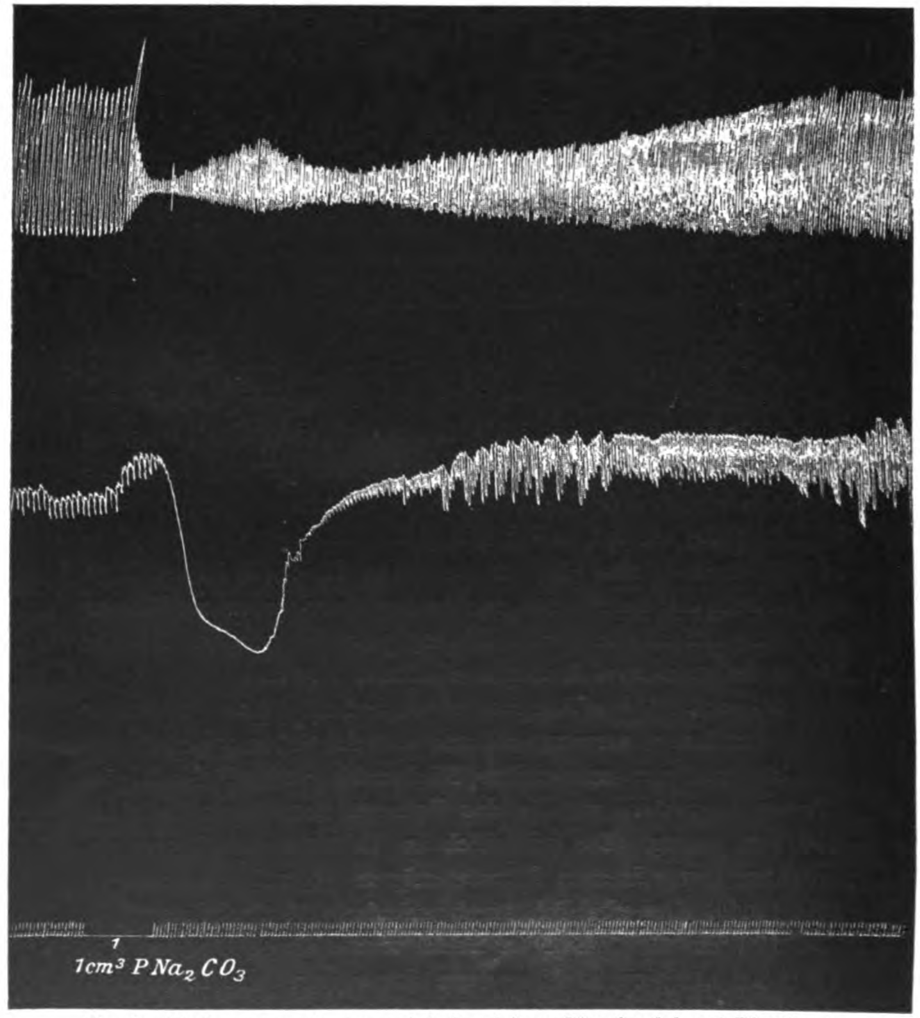


Fig. 7. Wirkung von 1 ccm sodabehandeltem Pituglandol auf Blutdruck und Respiration.

Fig. 7 zeigt eine Blutdruckkurve, die mit einem sodabehandelten Präparat erhalten wurde.

Gegen die Anwendung dieser Agenzien bei der chemischen Bearbeitung ist also vom pharmakologischen Gesichtspunkte aus nichts einzuwenden.

Verhalten von Adrenalin, β-Imidazolyläthylamin, Histidinester und Histidinanhydrid.

Die Fig. 8 zeigt die Blutdruck- und Respirationswirkung von 1 mg β-Imidazolyläthylamin, das in gleicher Weise wie Pituglandol mit 2 n-Alkali vorbehandelt gewesen war. Die Blutdrucksenkung und Respirationswirkung kommen unverändert zum Ausdruck, das Tier starb an Bronchialspasmus. Es war also in keiner Weise eine Inaktivierung des β-Imidazolyläthylamins erfolgt.

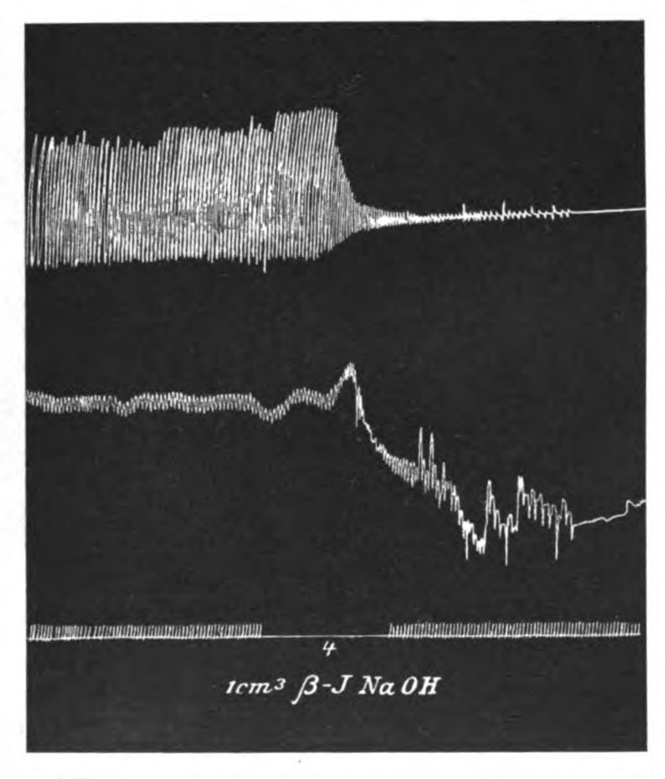


Fig. 8. Wirkung von 1 mg alkalibehandeltem β-Imidazolyläthylamin (Kaninchen, Urethannarkose).
R = Respiration, *B* = Blutdruck, *t* = Zeit in Sek.

In gleicher Weise wurde auch die charakteristische blutdrucksteigernde Wirkung von Suprarenin durch Vorbehandlung mit Natronlauge nicht verändert, wie dies aus Fig. 9 deutlich hervorgeht.

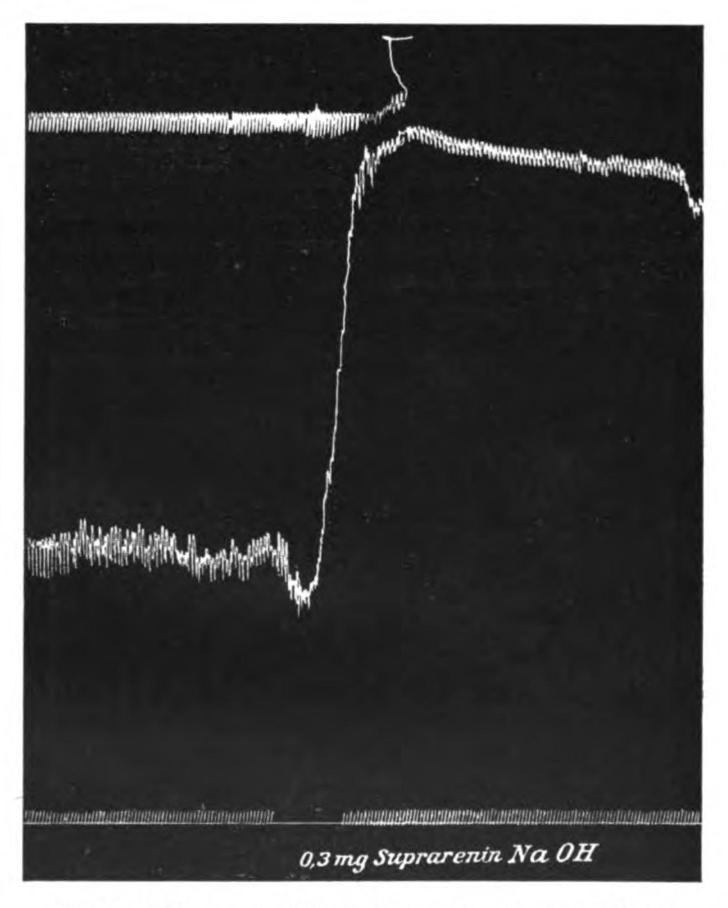


Fig. 9. Wirkung von 0,3 mg Suprarenin, mit Natronlauge vorbehandelt (Kaninchen, Urethannarkose).

Die Versuche mit den Estern des Histidins und mit Histidinanhydrid ergaben ein vollständig negatives Resultat. Dosen von 1 bis 2 cg zeigten nur eine ganz geringe Blutdrucksteigerung, die nicht stärker war als die einer entsprechenden Menge von Histidin. Auf die Respiration sowie auf den überlebenden Darm wurde keine merkbare Wirkung ausgeübt.

Pilocarpin und Natronlauge.

Nach den vorstehenden Versuchen hatte sich im Verhalten des Imidazolyläthylamins und des Adrenalins gegenüber Alkali keinerlei Analogie zum Pituglandolprinzip ergeben. Das Pituglandolprinzip erwies sich also in dieser Hinsicht von diesen beiden Substanzen völlig verschieden. Als wir jedoch, um das Vorhandensein einer Lactonbindung im Pituglandol nachzuweisen, die gleichen Inaktivierungsversuche mit Pilocarpin ausführten, ergaben sich weitgehende Ähnlichkeiten im Verhalten dieser beiden Substanzen. Wir studierten an diesem Präparat einerseits dessen charakteristische Wirkung auf die Speichelsekretion, anderseits seine Wirkung auf den Blutdruck und auf den überlebenden Darm. Bald nach der Injektion von 1 mg Pilocarpinchlorhydrat in die Femoralis eines urethannarkotisierten Kaninchens erfolgte Blutdrucksenkung, die vorübergeht, um einer länger dauernden Blutdrucksteigerung Platz zu machen, wobei die Wirkungen des Pilocarpins auf den Vagusapparat im Auftreten von Vaguspulsen sichtbar werden. Das Wirkungsbild ähnelt in gewisser Beziehung dem des Pituglandols, nur fehlt die Wirkung auf die Respiration. Bald nach der Injektion des Pilocarpins tritt auch die typische Wirkung auf die Speicheldrüsen in Aktion, das Tier speichelte so stark, daß durch Verstopfung der Mareyschen Kapsel die Atemregistrierung bald verunmöglicht wurde.

Überläßt man das Pilocarpin der Einwirkung von Alkali und injiziert den kurz vorher neutralisierten Extrakt, so zeigt sich, daß das Pilocarpin durch diese Behandlung völlig inaktiv geworden ist. Weder die Wirkung auf den Blutdruck noch die Drüsenwirkung kommen zum Ausdruck. Sehr schön läßt sich dieser Vorgang in Fig. 10 zum Ausdruck bringen.

Sehr deutlich zeigt sich der Inaktivierungsvorgang des Pilocarpins bei der Alkalibehandlung auch am überlebenden Darm. Wie bereits Magnus festgestellt hatte, wirkt Pilocarpin in hervorragendem Maße tonussteigernd auf den überlebenden Darm. Wir benutzten als Testobjekt den Meerschweinchendarm.

Bei mit Alkali behandeltem Pilocarpin ist nun die Wirkung erheblich abgeschwächt, wie aus Fig. 11 hervorgeht.

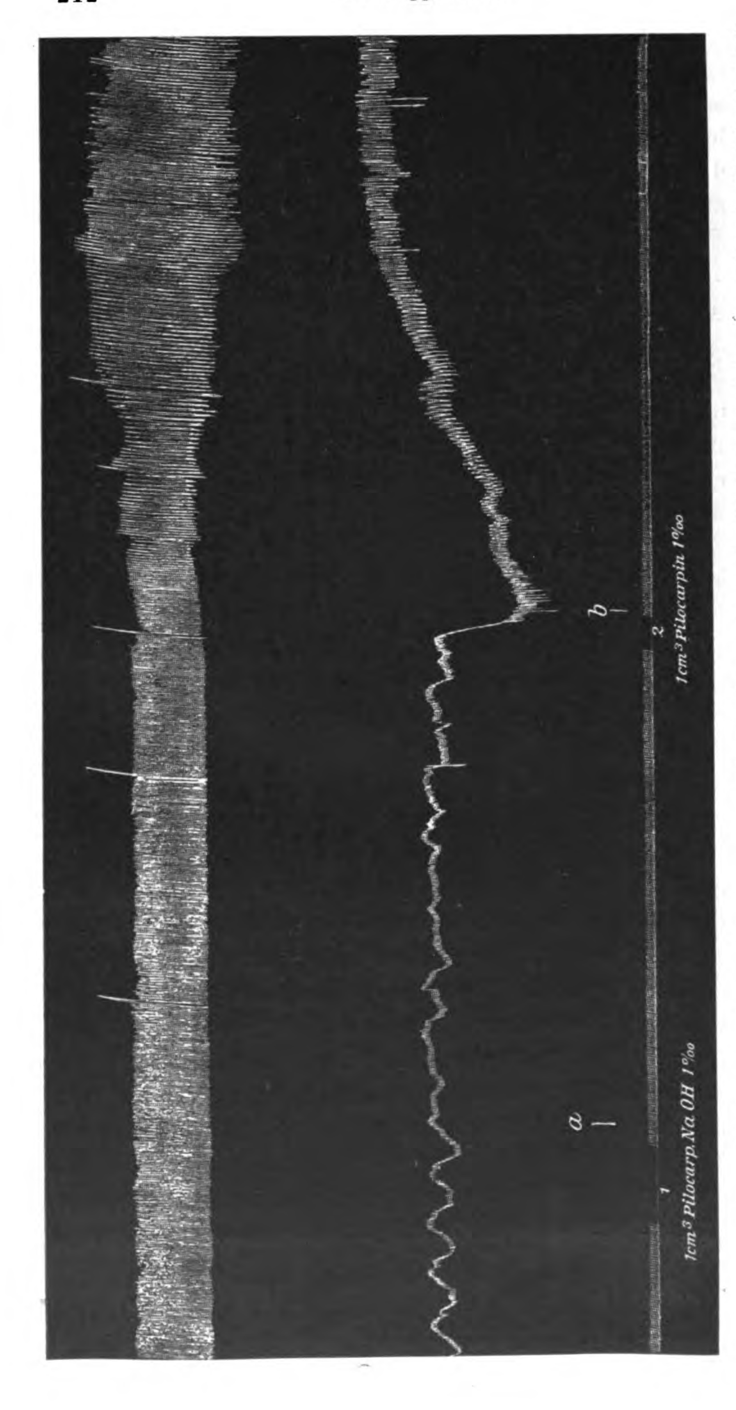


Fig. 10. Bei a) wurde 1 ccm = 1 mg Pilocarpinhydrochlorid, das vorher mit Alkali behandelt war, injiziert, Blutdruck und Respiration bleiben unverändert. Bei b) wurde 1 mg normales Pilocarpinchlorhydrat injiziert; sofort traten die vorherbeschriebenen charakteristischen Wirkungen ein.

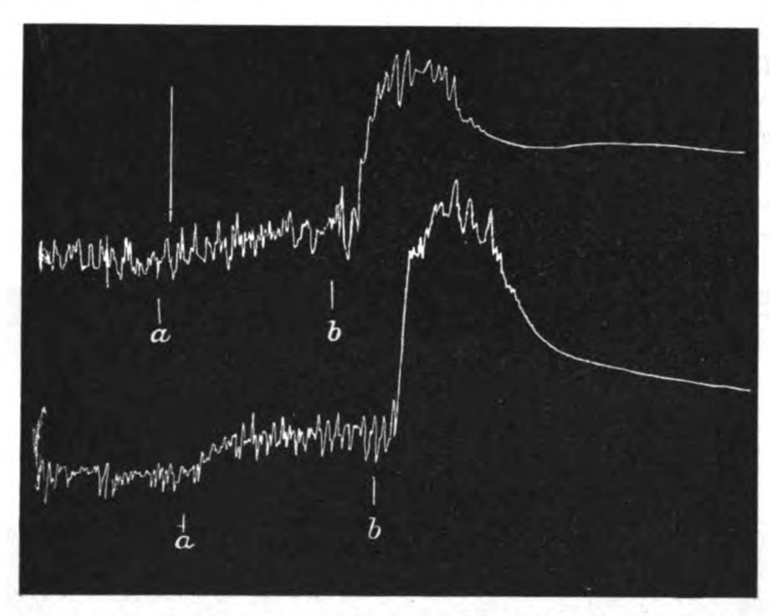


Fig. 11. Bei a) wurden zu dem in 100 ccm Ringer suspendierten Meerschweinchendarm 0,4 ccm einer 1 $^0/_{00}$igen NaOH-Lösung des mit Alkali behandelten und wieder neutralisierten Pilocarpins gegeben. Es zeigte sich eine Andeutung von Tonussteigerung, die weit hinter der einer gleichen Dosis des normalen Pilocarpins (b) zurückstand. Hier erfolgte momentaner und starker Anstieg der Darmkurve, bald darauf ein Abfallen und völliges Erlöschen des Rhythmus, eine Wirkung, wie sie auch mit größeren Dosen des mit Alkali behandelten Pilocarpins nicht zum Ausdruck gelangt.

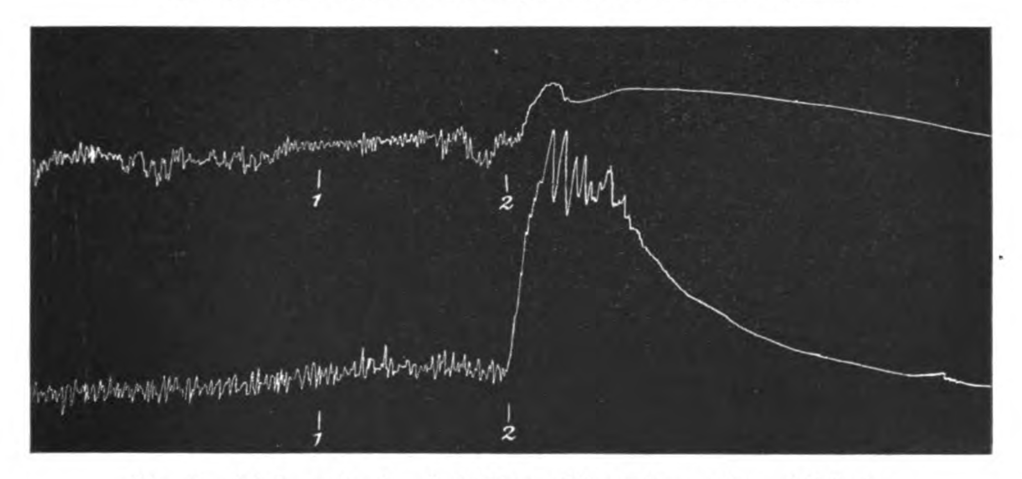


Fig. 12. Bei 1 wurde das inaktivierte Pilocarpin gegeben, bei 2 das reaktivierte, das die Pilocarpinwirkung wieder voll zum Ausdruck brachte.

Die vorstehenden Pilocarpinversuche am Darm und am Blutdruck zeigen, daß das Pilocarpin neben sonstigen ähnlichen pharmakologischen Eigenschaften mit dem Pituglandol auch die große Alkaliempfindlichkeit teilt. Wie aber Fig. 12 zeigt, läßt sich durch Erhitzen des mit Alkali inaktivierten Pilocarpins in schwachsaurer Lösung wieder eine völlige Reaktivierung hervorrufen.

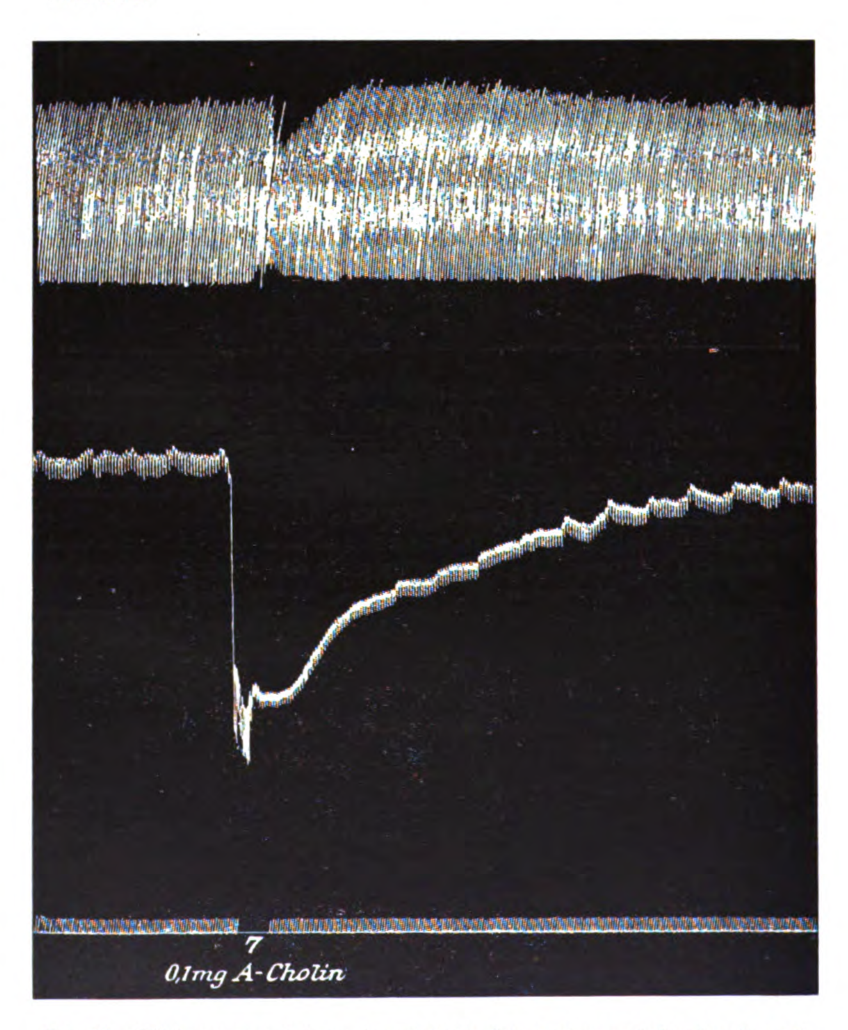


Fig. 13. Wirkung von 0,1 mg Acetylcholinchlorhydrat auf Blutdruck und Respiration des Kaninchens.

Diese Reaktivierung ist mit dem Pituglandol nicht gelungen. Wir haben das mit Alkali inaktivierte Pituglandol in schwach saurer Lösung bei Zimmertemperatur belassen, längere Zeit im Brutraum bei 37° gehalten, auf 100° erwärmt und haben nie eine Reaktivierung beobachten können, derart, daß die Uteruswirkung oder die Blutdruckwirkung wieder zum Vorschein gekommen sind. Auch Eindampfen mit Eisessig über Ätzkali war ohne Erfolg geblieben.

Acetylcholin und Alkali.

Fig. 13 zeigt die Wirkung auf den Carotisblutdruck und Respiration am urethan-narkotisierten Kaninchen, wo ein 3,2 kg schweres Kaninchen 0,1 mg Acetylcholinchlorhydrat in die Femoralis injiziert erhielt. Größere Dosen bewirkten noch länger dauernde Blutdrucksenkung, die Respiration wird noch stärker beeinflußt und kann so-

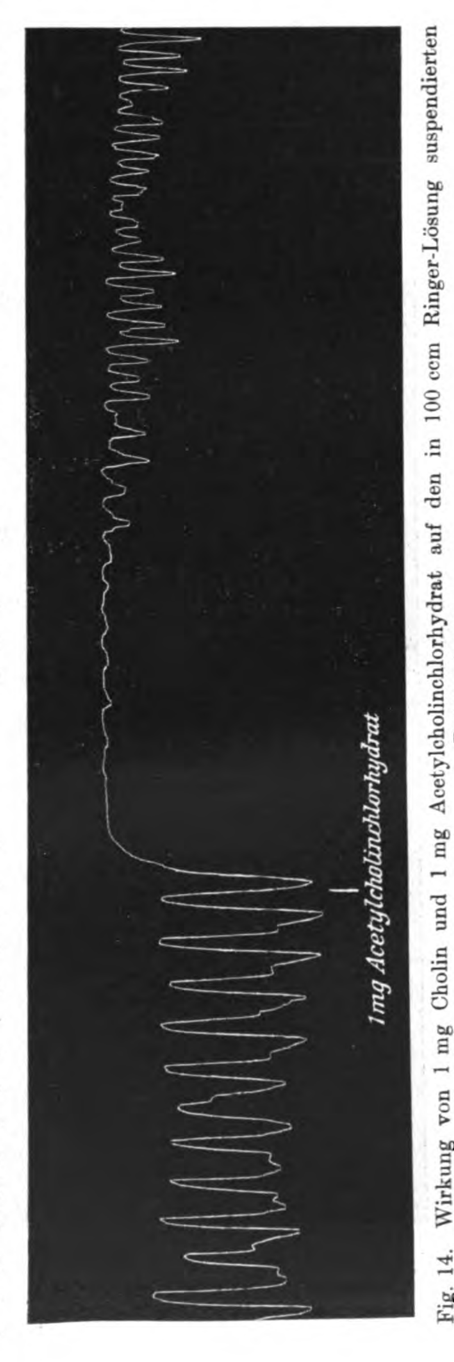


Fig. 14. Wirkung von 1 mg Cholin und 1 mg Acetylcholinchlorhydrat auf den in 100 ccm Ringer-Lösung suspendierten Rattenuterus.

gar für einige Zeit völlig aussetzen, um dann kurze Zeit darauf mit vergrößerter Amplitude einzusetzen. Dosen von 1 mg an bewirken starke Unruhe des Tieres, Krampferscheinungen, Salivation. Wiederholte Injektionen ergaben dasselbe Bild stets unverändert wieder.

Fig. 14 zeigt die Wirkung von 1 mg Acetylcholin auf den Rattenuterus, die sich in nichts von der Wirkung des Pitu-

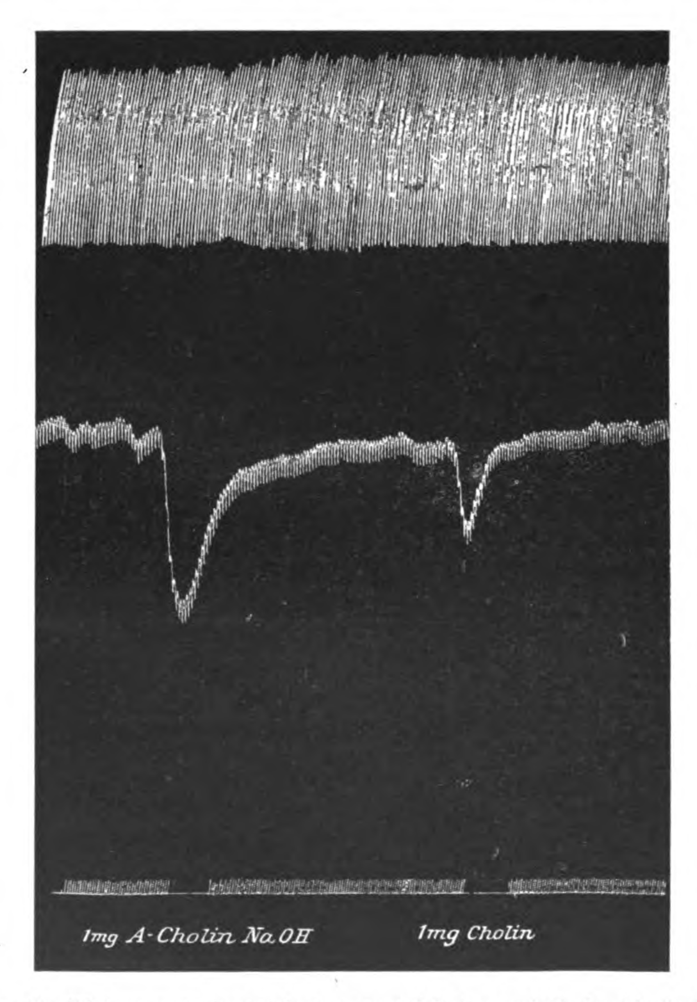


Fig. 15. Wirkung von inaktiviertem Acetylcholin- und Cholinchlorhydrat auf Blutdruck und Respiration des Kaninchens. Bei a) erfolgte Injektion von 1 mg Acetylcholin, bei b) 1 mg Cholinchlorhydrat.

glandols unterscheidet. Cholin selber hat in der entsprechenden Konzentration keine Wirkung auf den Rattenuterus.

In Fig. 15 wurde 1 mg alkalibehandeltes Acetylcholin, also die zehnfache Dosis wie in Fig. 13, injiziert. 1 ccm $1^0/_0$iges Cholinacetat wurde in $1^1/_2$ Stunden mit 1 ccm 2 n-NaOH stehen gelassen, neutralisiert und auf 10 ccm verdünnt. Die Wirkung ist fast völlig aufgehoben. Es resultiert nur eine kurz vorübergehende Blutdrucksenkung, die nicht viel stärker als die einer entsprechenden Dosis Cholin ist. Die geringe Differenz läßt sich leicht dadurch erklären, daß die Spaltung des Acetylcholins in der relativ kurzen Zeit noch nicht ganz komplett war. Die Atemkurve blieb vollständig unbeeinflußt. Auch die Wirkung auf den Rattenuterus war durch die Behandlung mit Alkali vollständig verloren gegangen.

Schlußfolgerungen.

Überblickt man die vorstehenden Ausführungen und Untersuchungen, so ergeben sich eine Reihe von Schlußfolgerungen, die für das weitere Studium der Hypophysenfrage von Interesse sind und vielleicht auch noch eine weitergehende Bedeutung besitzen.

Im Pituglandol befindet sich neben proteinogenen Aminen, wie sie in anderen Organextrakten vorkommen, ein spezifisches Prinzip, das eine charakteristische Wirkung auf Blutdruck und Respiration zeigt und das am Rattenuterus im Gegensatz zu gewissen proteinogenen Aminen und im Gegensatz zu anderen Organextrakten Tonussteigerung verursacht.

Die spezifische Hypophysensubstanz besitzt eine große Alkaliempfindlichkeit.

Feine Pulver (PbS, Talcum usw.) adsorbieren die wirksame Substanz in weitgehendem Maße.

Pilocarpin zeigt in seinem Verhalten gegen Alkali große Ähnlichkeit mit dem wirksamen Prinzip des Pituglandols. Bei der Behandlung mit verdünntem Alkali entsteht Pilocarpinsäure, die als pharmakologisch unwirksam oder nahezu unwirksam erkannt wurde. Neben dieser Ähnlichkeit im chemischen Verhalten besteht auch eine gewisse Ähnlichkeit in der pharmakologischen Wirkungsweise des Pilocarpins und des Pituglandols.

Noch weitgehender sind die Analogien im chemischen und

pharmakologischen Verhalten beim Acetylcholin, bei dem die Wirkung auf den Rattenuterus, auf die Respiration sowie auch zum Teil die Blutdruckwirkung stark an die entsprechenden Effekte des Pituglandols erinnern.

Ein prinzipieller Unterschied zeigt sich jedoch in der Tatsache, daß bei wiederholter Injektion die Wirkung des Acetylcholins unverändert auftritt und daß die beim Pituglandol sekundär auftretende Blutdrucksteigerung fehlt.

Die wirksame Hypophysensubstanz ist ihrer chemischen Natur nach wahrscheinlich die ätherartige Verbindung eines Alkanolamins mit einem Acylrest.

β-Imidazolyläthylamin unterscheidet sich vom Pituglandol durch die Alkalibeständigkeit, sowie durch die Wirkung auf den Rattenuterus.

Amidartige oder esterartige Verankerung der Carboxylgruppe von Aminosäuren (Histidin) vermag nicht eine wesentliche Steigerung der pharmakodynamischen Aktivität hervorzurufen.

Über das Verhalten des Serums gegenüber nativen Placentazellen.

Von

Robert Willheim und Stephan Szandicz.

(Aus dem chemisch-pathologischen Laboratorium der k. k. Krankenanstalt „Rudolfstiftung" in Wien.)

(Eingegangen am 28. Mai 1914.)

Die medizinische Forschung der letzten Jahre hat uns um eine Reihe neuer biologischer Methoden, Tatsachen und aussichtsreicher Fragestellungen bereichert. Als charakteristisches Merkmal dieser neuen Wege kann das erfolgreiche Bestreben angesehen werden, aus dem Blutserum, also einer Flüssigkeit, die den Gesamtstoffwechsel vermittelt, Anhaltspunkte für Vorgänge zu finden, die nach den älteren Anschauungen als vorzüglich lokal, den Gesamtstoffwechsel nur wenig oder gar nicht tangierend galten. Wir denken hierbei vornehmlich an die Resultate der Carcinomforschungen Freunds und an die Tatsachen und Probleme, mit denen uns die Fermentmethoden Abderhaldens bekannt gemacht haben.

Die erfolgreiche Anwendung der Methodik Abderhaldens auf die Carcinomforschung drängte die Frage auf, welche Beziehungen zwischen den Körpern herrschen, die bei der Abderhaldenschen Reaktion einerseits, bei der Freund-Kaminerschen Reaktion andererseits maßgebend sind.

Freund[1]) stellte nun die Tatsache fest, daß der für den positiven Ausfall der Abderhaldenschen Carcinom-Reaktion charakteristische Körper mit dem als Nucleoglobulin bezeichneten Anteil der Euglobulinfraktion des Serums ausgefällt wird, also am selben

---

[1]) Offizielles Protokoll der k. k. Ges. d. Ärzte in Wien. Wiener klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 18.

Eiweißkörper haftet, dem, wie Freund gefunden hat, die Eigenschaft zukommt, einerseits Carcinomzellen vor der auflösenden Kraft des Normalserums zu schützen, andererseits mit Extrakten aus Carcinomgeweben charakteristische Trübungen zu geben. Es war damit ein merkwürdiger Zusammenhang zwischen den Carcinom-Reaktionen Freunds und Abderhaldens festgestellt, eine Tatsache, aus der sich uns logischerweise die Fragestellung ergab, ob ein ähnlicher Zusammenhang nicht auch auf anderen Anwendungsgebieten der Abderhaldenschen Reaktion feststellbar wäre, d. h. also, ob sich nicht auch auf diesen anderen Gebieten den Freundschen Carcinom-Reaktionen analoge Phänomene beobachten lassen. Das hier in erster Linie in Betracht kommende Gebiet ist naturgemäß das der Gravidität, und wir wandten uns im Sommer 1913 zuvörderst der Frage zu: Zeigen native Placentazellen ein analoges Verhalten wie Carcinomzellen, d. h. werden sie vom Serum Nichtgravider zerstört wie Carcinomzellen vom Serum Nichtcarcinomatöser, und bleibt dieses Phänomen der Zellyse aus, wenn man die Placentazellen mit Graviden-Serum zusammenbringt, ebenso wie Carcinomzellen vom Carcinomserum nicht zerstört werden?

Die Placentazellen wurden auf folgende Weise gewonnen Möglichst frische — nicht über 6 Stunden alte oder bis 24 Stunden auf Eis gelegene — Placenten wurden von den Eihäuten befreit, mit den Fingern grob zerkleinert und im strömenden Leitungswasser in einem Koliertuch höchstens $^1/_2$ Stunde lang zur groben Entfernung des Blutes gewaschen. Hierauf wurden die Placentastücke mit einem Wiegemesser auf dem Hackbrett feiner zerteilt und dann in dem früheren Koliertuch gegen 0,85 $^0/_0$ige Kochsalzlösung gepreßt. Zwecks ergiebiger Ausbeute erfolgte das Pressen mit beträchtlicher Kraft, besonders zum Schluß, d. h. wenn der Preßsaft nur mehr leicht rötlich gefärbt war. Die Kochsalzlösung wurde in kleinen Quantitäten (80 bis 100 ccm) zugegossen und so oft gewechselt, daß man zu einer Placenta einen Liter verwendete. Die vereinigten Preßsäfte wurden zentrifugiert, die Zellen mit 0,85 $^0/_0$iger Kochsalzlösung blutfrei gewaschen und auf 0,75 $^0/_0$ Fluornatriumgehalt gebracht.

Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigte sich dieses Material als keineswegs geeignet für eine Zellzählung, wie sie von Freund-Kaminer mit Carcinomzellen in der Zeißschen Kammer

geübt wird. Die Placentazellen erscheinen nicht durchweg isoliert, sondern häufig als Zellstränge und -haufen, die eine genauere Zählung verhindern. Außerdem war das Gesichtsfeld häufig von Bindegewebsfasern durchzogen, und es konnten diese Verunreinigungen durch keinerlei Prozeduren entfernt werden. Immerhin untersuchten wir einige Graviden- und Nichtgravidensera mit diesem Material auf ihr lytisches Vermögen, wobei wir nur Gesichtsfelder berücksichtigten, die von obengenannten störenden Elementen frei waren. Was die Digestion der Zellen mit den Seris und ihre Zählung betrifft, hielten wir uns im übrigen genau an das von Freund und Kaminer[1]) bei Carcinom beobachtete Verfahren. Wie schon mit Rücksicht auf die genannten Übelstände zu erwarten, waren die auf diesem Wege erhobenen Befunde durchaus nicht eindeutig, so daß von einem verwertbaren Resultate keine Rede sein konnte. Eher schien uns das Aussehen der einzelnen Placentazellen darauf hinzuweisen, daß bei Seren Nichtgravider eine Andauung der Zellen statthat, die wir bei Gravidenseris nicht wahrnehmen konnten. Während nämlich die Placentazellen auch nach mehrtägiger, selbst einwöchentlicher Digestion mit Gravidenserum im Brutofen in der Regel nichts von der Schärfe der Konturen und Homogenität des Protoplasmas einbüßten, sahen wir nach der Digestion mit Serum Nichtgravider die Kontur häufig undeutlich, das Protoplasma durchsetzt mit kleinsten Tröpfchen. War auch dieser Unterschied lange nicht so evident, daß daraus mit Sicherheit ein bloß Nichtgraviden-Serum eigenes Abbauvermögen gegenüber Placentazellen erschlossen werden konnte, ermunterte er dennoch, dem Probleme nochmals näher zu treten, diesmal von einer anderen, der rein chemischen Seite.

Wir gingen von der Annahme aus, daß eine eventuell vorhandene abbauende Wirkung des Nichtgraviden-Serums auf Placentazellen sich in einer Zunahme des inkoagulablen Stickstoffes äußern würde, während bei Digestion von Placentazellen mit Graviden-Serum eine Zunahme des inkoagulablen Stickstoffes nicht stattfinden würde. Analoge Versuche wurden auf dem Gebiete des Carcinoms vor uns von Neuberg[2]) mit Erfolg ausgeführt. Unsere Versuchsanordnung war folgende:

[1]) Diese Zeitschr. **26**, 312, 1910.

[2]) Diese Zeitschr. **26**, 344, 1910.

Gemessene Mengen der, wie oben beschrieben, präparierten Placentazellen wurden mit dem gleichen oder mehrfachen Volumen Normal-Serum und Graviden-Serum resp. Retroplacenta-Serum und in einem Fall Extrauterin-Serum versetzt, die Mischung in Eprouvetten auf 0,75$^0/_0$ Fluornatriumgehalt gebracht, mit Toluol überschichtet und mit Watte-Kautschukverschluß 48 Stunden im Brutschrank bei 37^0 gelassen. Parallel damit wurden die einzelnen Komponenten, Zellen und Sera, getrennt unter den gleichen äußeren Bedingungen aufbewahrt. Nach 48 Stunden wurde der Inhalt der Eprouvetten in entsprechenden Verdünnungen in Gegenwart von Salz (5$^0/_0$ Natriumsulfat) unter vorsichtigem Zusatz von 5$^0/_0$ Essigsäure (etwa 2,5 ccm auf 100) koaguliert und der Filtrat-Stickstoff bestimmt. Die Werte der getrennt im Brutschrank gestandenen Sera und Zellen wurden addiert und mit dem zugehörigen Werte der gemeinsamen Digestion dieser beiden Komponenten verglichen. Die in den einzelnen Versuchen verwendeten Zellen entstammten jedesmal einer neuen eigens für den betreffenden Versuch vorgenommenen Darstellung.

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht der gewonnenen Resultate. Die Zahlen bedeuten ccm $^1/_{10}$ Normal-Lauge und sind z. T. Durchschnittswerte von Doppelbestimmungen, die keine in Betracht kommenden Differenzen zeigten.

Versuchsreihe Nr.	Versuche mit Nichtgraviden-Serum				Versuche mit Graviden-Serum			
	Getrennte Digestion	Gemeinsame Digestion	Differenz (gemeinsame – getrennte Digestion)	Anmerkungen	Getrennte Digestion	Gemeinsame Digestion	Differenz (gemeinsame – getrennte Digestion)	Anmerkungen
I.	31,9	35,3	+ 3,4	10 ccm Placentazellen + 100 „ Pferde-Serum.	5,8	4,2	– 1,6	3 ccm Placentazellen + 15 „ Retroplacentarserum.
II.	17,7	21,3	+ 3,6	5 ccm Placentazellen + 20 „ Menschen-Serum.	8,8	8,2	– 0,6	5 ccm Placentazellen + 15 „ Graviden-Serum.
III.	24,4	20,1	– 4,3	15 ccm Placentazellen + 15 „ Menschen-Serum.	22,5	16,1	– 6,4	15 ccm Placentazellen + 15 „ Retroplacentarserum.
IV.	16,9	17,8	+ 0,9	20 ccm Placentazellen + 20 „ Menschen-Serum.	17,6	17,4	– 0,2	20 ccm Placentazellen + 20 „ Retroplacentarserum.
V.	20,5	20,7	+ 0,2	5 ccm Placentazellen + 15 „ Menschen-Serum.	11,0	10,7	– 0,3	5 ccm Placentazellen + 15 „ Graviden-Serum.
VI.	—	—	—	Wegen Serummangel nicht aufgestellt.	13,2	10,8	– 2,4	5 ccm Placentazellen + 15 „ Extrauterin-Serum.
VII.	17,8	18,1	+ 0,3	5 ccm Placentazellen + 15 „ Menschen-Serum.	16,1	13,3	– 2,8	5 ccm Placentazellen + 15 „ Retroplacentarserum.
VIII.	17,6	20,5	+ 2,9	5 ccm Placentazellen + 15 „ Menschen-Serum.	—	—	—	Wegen Serummangel nicht aufgestellt.
IX.	11,9	10,0	– 1,9	5 ccm Placentazellen + 10 „ Menschen-Serum.	—	—	—	Wegen Serummangel nicht aufgestellt.

Betrachten wir die Versuche I, II, IV, V, VII, VIII. Es zeigt sich hier in der Tat, daß bei der gemeinsamen Digestion von Placentazellen mit Nichtgraviden-Serum der Filtrat-Stickstoff eine Zunahme gegenüber dem Filtrat-Stickstoff der getrennten Digestion erfahren hat; diese Zunahme fehlt bei den Versuchen mit Graviden-Serum. Noch mehr! Der Filtrat-Stickstoff der gemeinsamen Digestion zeigt hier beim Versuch IV, V eine minimale, beim Versuch II eine etwas größere, beim Versuch I, VI und VII eine ganz auffallende Verminderung gegenüber dem Filtrat-Stickstoff der getrennten Digestion. Bevor wir auf dieses — wie wir glauben — wichtige Moment weiter eingehen, stellen wir fest, daß sich also in den besprochenen Versuchen in der Tat ein Gegensatz zwischen Serum Gravider und Nichtgravider in ihrem Verhalten gegenüber nativen Placentazellen ergeben hat.

Die durch Nichtgraviden-Serum bewirkte Zunahme des Filtrat-Stickstoffes ist wohl der Ausdruck eines den untersuchten Seren eigenen Abbauvermögens gegenüber nativen Placentazellen und bildet das von uns auf dem Gebiete der Gravidität vermutete Analogon zum Carcinomzellen-Abbau durch Serum Nichtcarcinomatöser. Dieser Abbau war interessanterweise sehr häufig schon bei der bloßen makroskopischen Besichtigung der Proben in der Eprouvette wahrnehmbar. Während nämlich die unter Graviden-Serum liegende Zellsäule ein durchaus homogenes Aussehen zeigte und nach oben zu scharf und eben gegen das Serum abschloß, war die Grenze der Placentazellen gegen Normal-Serum unscharf und gewellt, die Zellsäule selbst von zahlreichen Rissen zerklüftet. Das überstehende Serum selbst blieb, im Falle es sich um Graviden-Serum handelte, klar, während das Nichtgraviden-Serum häufig eine deutliche milchige Trübung (Albumosen?) zeigte. Wir halten es für wesentlich, diese Momente hier zu betonen, weil sie auch in den Fällen sehr deutlich waren, wo die Bestimmung des Filtrat-Stickstoffes eine nur unbedeutende Zunahme desselben zeigte. Möglich, daß in diesen Fällen der Abbau noch nicht bis zu Produkten geführt hatte, die auch nach einer in verhältnismäßig salzreicher Lösung vorgenommenen Erhitzung und anschließenden Abkühlung völlig löslich geblieben waren.

Nicht so leicht zu deuten ist der zweite von uns erhobene,

in den Versuchen I, VI und VII besonders prägnante Befund: Der Mindergehalt an Filtrat-Stickstoff auf Seite der gemeinsamen Digestion nativer Zellen mit Graviden-Serum.

Um dies verständlich zu finden, muß man unseres Erachtens den Umstand in Rechnung ziehen, daß die im Brutschrank isoliert aufbewahrten Zellen einen spontanen Abbau — Autolyse — aufweisen, wovon wir uns auch durch entsprechende Versuche überzeugten. Berücksichtigt man dies, dann manifestiert sich der von uns beobachtete Mindergehalt an Filtrat-Stickstoff auf Seite der gemeinsamen Digestion von Placentazellen und Graviden-Serum als nichts anderes als eine durch Graviden-Serum bewirkte Hemmung der Autolyse, wobei es freilich dahingestellt bleibt, wie man sich den Mechanismus dieser Hemmung vorzustellen hat. Es kann sich um eine Hemmung sensu strictiori, d. h. um eine Behinderung der abbauenden Fermente an ihrer Arbeit handeln, es kann aber auch eine der abbauenden Arbeit dieser Fermente entgegengesetzte synthetische Funktion des Serums vorliegen. Auch ist zu bedenken, daß sich während der Autolyse neben den abbauenden Vorgängen auch synthetische Prozesse abspielen[1]). Es könnte sich bei unserem Phänomen somit auch um eine Steigerung gerade dieser Phase der Autolyse handeln.

Natürlich haben wir versucht, unsere Annahme, daß es sich um die Hemmung eines autolytischen — nicht etwa bakteriellen — Abbaues handle, durch bakteriologische Untersuchung zu stützen. Während im Nativpräparat nur nach langem Suchen ganz vereinzelte Stäbchen und im Grampräparat solche überhaupt nicht zu finden waren, konnten wir kulturell (Agarplatten) Streptokokken und Bacterium coli nachweisen. Scheint auch der letztere Befund die Berechtigung der Annahme einer Autolyse in Frage zu stellen, so glauben wir dennoch, aus folgenden Gründen an unserer Auffassung festhalten zu müssen:

1. Die bakteriologische Untersuchung ergab das gleiche Resultat beim Versuch: Placentazellen allein und bei dem Versuche Placentazellen + Graviden-Serum einerseits und Placentazellen + Nichtgraviden-Serum andererseits. Eine wesentlich

[1]) F. Daels et C. Deleuze, Bull. de l'Acad. Roy. de Méd. de Belg. **26**, Serie 4, Nr. 11, 833, 1912. — Vgl. auch schon R. Knapp, Zeitschr. f. Heilk. **23**, Heft 9, 1902.

stärkere antibakterielle Wirkung des Graviden-Serums im Gegensatz zum Nichtgraviden-Serum ging aus unserer bakteriologischen Prüfung nicht hervor. Eine solche müßte man aber annehmen, wollte man unsere Auffassung zugunsten eines bakteriellen Abbaues fallen lassen.

2. Wie später noch ausgeführt werden wird, wirkt Nichtgraviden-Serum, das auf den Abbau von Placentazellen keinen hemmenden Einfluß ausübt, auf den Abbau anderer Organzellen hemmend.

Würde man also die Resultate unserer Placentazellen-Versuche auf bakterielle und antibakterielle Kräfte zurückführen wollen, so käme man zu der Folgerung, daß Nichtgraviden-Serum im allgemeinen Bakterien in Organzell-Emulsionen hemmt, nur nicht die Bakterien in Placentazell-Emulsionen!

Daß Graviden-Serum den autolytischen Abbau von Placentazellen hemmt, erscheint nicht sehr befremdlich, wenn man bedenkt, daß diese Hemmung keinen im Prinzig neuen Befund darstellt. In ihren bekannten außerordentlich sorgfältigen Untersuchungen ist es Baer[1]) und Baer und Loeb[2]) gelungen, zu zeigen, daß jedem Serum das Vermögen eignet, Autolyse von Organen (Leber, Milz) zu hemmen. Was demnach in unseren Versuchen auffallend und bemerkenswert ist, ist nicht die Hemmung der Placentazellen-Autolyse durch Graviden-Serum, vielmehr das Fehlen einer solchen Fähigkeit beim Nichtgraviden-Serum. Ein solches unterschiedliches Verhalten kommt den genannten Seren offenbar nur Placentazellen gegenüber zu, wie sich aus dem Zusammenhalt unserer Placentazellen- und der Baerschen Leberautolyseversuche ergibt. Um diesen Schluß noch experimentell zu festigen, haben wir das Verhalten von Graviden-Serum und Nichtgraviden-Serum gegenüber Leberzellen studiert, die in analoger Weise wie unsere Placentazellen dargestellt wurden. Konform mit den Beobachtungen von Baer, der allerdings Graviden-Serum nicht mituntersuchte, ergab sich eine nennenswerte Hemmung der Autolyse, und zwar durch beide Seren. Eine Gesetzmäßigkeit nach der Richtung, daß

---

[1]) Kongreß f. inn. Med. Wiesbaden 1905 (Vortrag); Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **56**, 168.

[2]) Arch. i. experim. Pathol. u. Pharmakol. **53**, 1, 1905.

der einen Serumgattung ein stärkeres Hemmungsvermögen eignen würde, konnten wir nicht feststellen.

Faßt man diese Tatsachen zusammen, so gelangt man zu der Erkenntnis, daß Placenta hinsichtlich der Beeinflussung ihrer Autolyse durch Seren — soweit bis jetzt bekannt — eine exzeptionelle Stellung einnimmt. Der autolytische Abbau von Placenta wurde in den bis jetzt besprochenen Versuchsreihen bloß von Seren von Placentaträgern gehemmt.

Wir gelangen nunmehr zur Besprechung der — wie man sofort sieht — mit dieser Auffassung nicht übereinstimmenden Fälle III und IX. In diesen Versuchen wurden die verwendeten Zellen auch vom Nichtgraviden-Serum in ihrem Abbau geschützt, und zwar in sehr namhafter Weise. Worauf dieses ungewöhnliche Verhalten zurückzuführen ist, entzieht sich vorderhand unserer Beurteilung. Möglich, daß der Grund in dem verwendeten Zellmaterial gelegen ist. Möglich ist aber auch daß, abgesehen von dem dem Graviden-Serum eigenen spezifischen Hemmungsvermögen gegen Placenta-Autolyse, jedes Serum über unspezifische antiautolytische Kräfte verfügt, so daß es erst von der relativen Stärke der vorhandenen abbauenden Substrate abhängt, ob sich ihre Wirkung trotzdem in einer Zunahme des inkoagulablen Stickstoffes zu äußern vermag. Immerhin war in der Versuchsreihe III der mit Graviden-Serum beobachtete Schutz noch um ein bedeutendes größer als der im Versuch mit Nichtgraviden-Serum beobachtete.

Bezeichneten wir vorhin die Stellung der Placenta als exzeptionell, so meinten wir damit: different von den normalen Körperorganen; denn ein pathologisches Gewebe, das Carcinom, scheint ein ähnliches Verhalten an den Tag zu legen. Wie schon erwähnt, wurde die gleiche Versuchsanordnung, wie sie von uns bei Placentazellen durchgeführt wurde, von Neuberg[1]) bei Carcinomgewebe vor uns angewendet. Die Resultate dieses Forschers sind für unsere Überlegungen insofern von besonderer Bedeutung, weil das von Neuberg bei Carcinom beobachtete Verhalten gleichfalls ein völlig anderes ist, als es nach dem von Baer entdeckten Prinzip der Autolysehemmung durch Seren zu erwarten war. Es fand nämlich beim Versuch Carcinom-

[1]) l. c.

zellen + Normal-Serum eine Zunahme des inkoagulablen Stickstoffs statt, eine Tatsache, die, vom Gesichtspunkt der Autolyse betrachtet, zu der Auffassung drängt, daß im gegebenen Falle keine Hemmung der Autolyse, vielmehr eine Förderung derselben resp. Heterolyse stattgefunden hat.

Also ein Fehlen der Autolysehemmung bei Seren Nichtcarcinomatöser gegenüber Carcinomzellen, wie ein Fehlen der Autolysehemmung bei Serum Nichtgravider gegenüber Placentazellen.

Im Verhalten von Carcinomserum gegenüber Carcinomzellen allerdings fehlt die weitere völlige Analogie, indem hier zwar keinerlei Abbau statthatte, aber auch keine Hemmung von Autolyse zu beobachten war, was vielleicht darauf zurückzuführen ist, daß Neuberg mit Carcinom-Serum von Leichen arbeitete, während wir stets frische Graviden-Sera zur Verfügung hatten.

An dieser Stelle ist es uns eine angenehme Pflicht, den Herren Assistenten der II. Frauenklinik (Prof. Wertheim) Doz. Dr. Weibel, Doz. Dr. Wagner und Dr. Werner sowie dem Laboratoriumsvorsteher der I. Frauenklinik (Hofrat Schauta) Dr. Frankl für ihr außerordentlich liebenswürdiges Entgegenkommen bei der Beschaffung von Seren aufs wärmste zu danken.

Der Umstand, daß es uns allem Anschein nach gelungen ist, die bei Carcinom mit nativen Zellen gefundene Gesetzmäßigkeit (Freund-Kaminer, Neuberg) auch auf dem Gebiete der Gravidität nachzuweisen und die diesen Prinzipien somit zukommende allgemeinere Bedeutung aufzudecken, drängt auch uns vor das Problem, wie denn der scheinbare Widerspruch zwischen den von uns beobachteten Phänomenen und den geradezu entgegengesetzte Resultate liefernden Abderhalden-Reaktionen zu erklären sei. Um diesen Gegensatz recht sinnfällig zu demonstrieren, haben wir parallel unseren oben beschriebenen Versuchen auch Versuche mit gleichen Mengen gekochter Placentazellen angestellt und nach entsprechender Digestion genau so wie bei der Arbeit mit ungekochtem Material den nicht koagulablen Stickstoff bestimmt. Er war entsprechend den Befunden Abderhaldens bei Verwendung von Graviden-Serum (auch Extrauterin-Serum) viel größer als bei der Verwendung von Nichtgraviden-Serum, zeigte also gerade das entgegengesetzte Verhalten wie in den Versuchen mit nativen

Zellen. Wie schon eingangs der Arbeit erwähnt, führt Freund dieses unterschiedliche Verhalten bei Carcinom auf differente Eigenschaften des gekochten und nichtgekochten Gewebs-Eiweißes zurück — eine Auffassung, die sich auch auf das von uns studierte Gebiet anwenden ließe. Wir möchten jedoch noch auf eine andere Erklärungsmöglichkeit hinweisen, die sich aus unserer oben auseinandergesetzten Betrachtungsweise von selbst ergibt. Wir sahen, daß die an lebenden Placentazellen von uns beobachteten Vorgänge sich zum Teil auf eine Hemmung der Autolyse zurückführen lassen. Machen wir nun die Annahme, daß auch der durch Nichtgraviden-Serum beobachtete Abbau von Placentazellen nicht ein selbständiger Prozeß, sondern lediglich eine Förderung der Autolyse ist (etwa nach dem Muster der Kofermente; vgl. auch Autolyseförderung durch Globulin [Baer]), dann haben wir in unseren Phänomenen Prozesse zu sehen, deren Ablauf an die Existenz autolytischer Fermente gebunden ist, und die demnach ausbleiben, wenn letztere einmal zerstört sind (Koagulation).

Unter Zugrundelegung dieser Hypothese kann man in Übereinstimmung mit Abderhaldens Theorie annehmen, daß seine „Abwehrfermente" auch auf das ungekochte Gewebe einwirken, daß aber ihre Wirkung verdeckt wird von dem Effekt der Antiautolyse. Erst wenn Autolyse und damit auch Antiautolyse ausgeschaltet sind (gekochtes Eiweiß) werden die Abderhaldenschen Phänomene manifest.

Endlich könnte man in analoger Weise, wie sich Abderhalden seine Abwehrfermente als Reaktionskörper auf in den Kreislauf gelangtes Organeiweiß vorstellt, den Hemmungskörper der Autolyse als Reaktionskörper auf resorbiertes autolytisches Ferment auffassen.

Wir haben weiterhin Extrakte aus Placenta-Gewebe mit Graviden-Serum znsammengebracht und die dabei entstehenden Trübungen und Farbenphänomene studiert. Unsere diesbezüglichen Untersuchungen sind jedoch noch nicht abgeschlossen.

Zusammenfassung.

Es wurde die Frage studiert, ob das differente Verhalten von Carcinom-Zellen gegenüber Carcinom-Serum einerseits, Normal-Serum andererseits (Reaktionen von Freund-Kaminer

und Neuberg) ein Analogon auf dem Gebiete der Gravidität besitzt. In 6 unter 8 untersuchten Fällen zeigten Placentazellen mit Nichtgraviden-Serum digeriert, in der Tat eine Zunahme des inkoagulablen Stickstoffs, während bei der Digestion mit Graviden-Serum eine derartige Zunahme nicht nur nicht statthatte, sondern der inkoagulable Stickstoff sogar einen geringeren Wert als bei der getrennten Aufbewahrung der beiden Substrate zeigte. Dieser Mindergehalt scheint darauf zurückzuführen zu sein, daß dem Graviden-Serum im Gegensatz zum Nichtgraviden-Serum die Fähigkeit zukommt, den autolytischen Abbau von Placentazellen in spezifischer Weise zu hemmen. Es besteht sonach auch auf dem Gebiete der Gravidität ein gerade gegensätzliches Verhalten von nativem und gekochtem Gewebsmaterial. Dieser Gegensatz könnte — wenigstens zum Teil — auf die nur nativem Gewebe eigenen autolytischen Prozesse und deren Beeinflußbarkeit durch Sera zurückzuführen sein.

Über die Aufnahme des Methylalkohols durch die Atmung.

Von

A. Loewy und R. v. d. Heide.

(Aus dem Tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule, Berlin.)

(Eingegangen am 30. Mai 1914.)

Mit 2 Figuren im Text.

Einleitung.

Gelegentlich eines Gutachtens, das der eine von uns [Loewy[1])] über die etwaigen schädlichen Wirkungen des Methylalkohols, insoweit dieser als Denaturierungsmittel in gewerblichen Betrieben benutzt wird, erstattet hat, haben wir eine größere Zahl von Versuchen angestellt, über die an jener Stelle nur kurz berichtet wurde, da sie mehr wissenschaftliches als praktisches Interesse darbieten.

Wir wollen hier in extenso diese Versuche mitteilen, da sie Fragen berühren, die, soweit wir sehen können, noch nicht bearbeitet worden sind und die doch ein allgemeineres Interesse beanspruchen können. Sie betreffen die Aufnahme des Methylalkohols durch die Lungen bei Atmung einer Methylalkohol enthaltenden Luft. —

Welche Beziehungen bestehen zwischen der Konzentration des Methylalkohols in der Atmungsluft und den in den Körper übergehenden Mengen? Auf welchem Niveau liegen letztere bei den verschiedenen Konzentrationen? In welcher Zeit geht die

---

1) A. Loewy: Inwieweit ist die gewerbliche Benutzung von vergälltem Branntwein geeignet gesundheitsschädliche Wirkungen hervorzurufen? Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. 3. Folge XLVIII. Supplem., 1914. — Auf diese Arbeit muß bezüglich aller die Praxis betreffenden Fragen verwiesen werden.

Sättigung des Körpers vor sich? Welches sind die maximalen, noch mit dem Leben verträglichen Mengen?

Über alle diese Fragen findet sich nichts in der uns zugänglich gewesenen Literatur vor; so zahlreich die Arbeiten sind, die sich mit der Wirkung des Methylalkohols bei Aufnahme in den Magen befassen, so wenig ist bisher seine Aufnahme mit der Atemluft behandelt worden, und doch ist dieser Modus darum bedeutsam, weil er in den zahlreichen, denaturierten d. h. also Holzgeist enthaltenden Spiritus verarbeitenden Betrieben wirksam wird[1]).

Nur zwei experimentelle Arbeiten berühren die oben aufgeworfenen Fragen. Die eine rührt von Eulenberg[2]) her. Sie betrifft die toxischen Wirkungen großer Methylalkoholmengen, die der Atemluft beigemischt wurden. Eulenberg beschreibt die dabei auftretenden Symptome; zu quantitativen Berechnungen über die Mengen des wirksam werdenden Methylalkohols reichen jedoch die angegebenen Daten und die eingehaltene Versuchsanordnung nicht aus.

Die zweite Arbeit stammt von R. Müller[3]). Er experimentierte an Ratten, die er 1 Stunde lang Luft mit einer Beimischung von 5 % Methylalkoholdampf einatmen ließ. Die Tiere waren danach kaum merklich somnolent und waren in 2 bis 3 Tagen wieder ganz erholt.

Müller berechnete die Holzgeistmengen, die bei seinen Tieren vom Körper aufgenommen wurden. Jedoch betreffen seine Rechnungen nur die mit der Atmung in die Lungen gelangenden; da aber nicht der gesamte zur Einatmung gelangte Methylalkohol vom Lungenblute aufgenommen wird, ein bis jetzt unbekannt gewesener Teil wieder exhaliert wird, sind die im Körper wirksam werdenden Mengen um einen mehr oder weniger großen Betrag geringer. — Zudem müssen Müllers Versuche ein falsches Bild von der Wirksamkeit bzw. Toxizität des in den Körper übergegangenen Alkohols geben, da dessen Auf-

---

[1]) Diese Betriebe und die in ihnen gemachten Erfahrungen sind im ersten Teile des genannten Gutachtens von Loewy ausführlich behandelt.

[2]) Eulenberg, Lehrbuch der Gewerbehygiene, S. 374. Berlin 1876.

[3]) R. Müller, Über die Methylalkoholvergiftung. Zeitschr. f. angewandte Chem. 1910, 1, 350 ff., 23. Jahrg.

nahme — wie die folgenden Versuche zeigen werden — äußerst langsam erfolgt, so daß bei Müllers Tieren eine Sättigung des Körpers entsprechend der benutzten Methylalkoholkonzentration von 5 % noch lange nicht erfolgt sein konnte.

I. Versuche an Tieren.

Unsere Versuche stellten wir an Ratten und Hunden an. Sie befanden sich, wie aus der beistehenden Figur ersichtlich, in einem großen, 87 l fassenden Glaskasten, durch

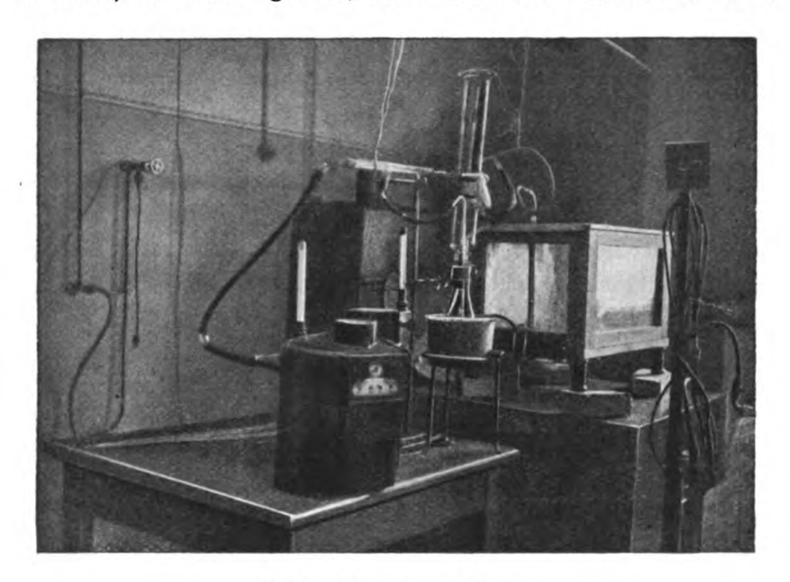


Fig. 1. Versuchsanordnung.

den Luft hindurchgedrückt wurde. Der Deckel des Kastens trug in der Mitte der Schmalseiten nahe dem Rande je einen Stutzen, dessen einer, für den Eintritt der Luft bestimmt, bis zum Boden des Kastens reichte, dessen anderer für ihren Austritt dicht unter dem Deckel endete. Durch diesen letzteren Stutzen wurde zugleich ein Thermometer in den Kasten eingeführt. Der Boden des Kastens lief in der Mitte trichterförmig zu, um etwa gelassenen Harn aufzusammeln, der in einzelnen Versuchen auf seinen Ammoniak- und Methylalkoholgehalt untersucht wurde. Die Tiere saßen auf einem engmaschigen Drahtnetz, das über dem Glasboden lag.

Die durch den Kasten streichende Luft passierte zuvor eine Gasuhr, durch die ihre Menge gemessen wurde, sodann eine Vorlage, in der sich Methylalkohollösungen in destilliertem Wasser befanden. Durch vielfache Vorversuche war festgestellt worden, welche Konzentrationen diese Lösungen haben müssen, um der Luft eine bestimmte Alkoholbeimischung zu geben. — Es wurde im Beginne eine bestimmte Menge bestimmt konzentrierter Alkohollösung in die Vorlage gebracht und am Schlusse die zurückgebliebene Menge und ihr Alkoholgehalt ermittelt. Die Differenz ergab die Menge des verdampften Alkohols. Diese, bezogen auf die Menge der hindurchgegangenen Luft, ließ den Gehalt dieser an Methylalkohol bzw. die Alkoholdampfspannung in der Luft berechnen.

Solcher Versuche wurden zahlreiche mit stark wechselnden Alkoholdampfspannungen und von ganz verschiedener Dauer bzw. mit verschieden langem Aufenthalt der einzelnen Tiere im Kasten angestellt. Zum Schluß wurden die Tiere, deren Befinden während des Versuches beobachtet war, durch Nackenschlag oder bei den Hunden durch Verblutung, wobei das ausfließende Blut aufgefangen und mit verarbeitet wurde, getötet, und der Gehalt des gesamten Tierkörpers an Methylalkohol festgestellt.

Die dabei benutzte Methode war, im Anschluß an die von Zulkowski angegebene, folgende.

Die Kadaver der Ratten wurden im ganzen, die der Hunde nach schneller Zerstückelung der Destillation mit Wasserdampf unterworfen, so lange, bis das übergehende Destillat frei von Alkohol war; dazu waren bei den Ratten 8 bis 10 l, bei den Hunden 15 bis 20 l erforderlich. Die einzelnen Fraktionen des Destillats wurden von neuem destilliert, und in diesen zweiten Destillationsfraktionen die Alkoholbestimmung ausgeführt.

Jedes Destillat wurde zuerst qualitativ auf Alkohol untersucht, und zwar analog der kombinierten Methode von Simmonds-Denigès[1]). 5 bis 10 ccm Destillat wurden mit 1 ccm einer 2%igen Permanganatlösung und 0,5 ccm konz. Schwefelsäure versetzt und genau 5 Minuten lang gut durchgeschüttelt. Sodann wird der Überschuß an Permanganat zerstört durch allmähliche Zugabe von 0,5 bis 1 ccm 10%iger Oxalsäurelösung. Durch heftiges Schütteln wird schließlich der Inhalt des Reagensglases zur wasserhellen Flüssigkeit, worauf man mit 1 ccm konz. SO_4H_2 wiederum gut durchmischt, rasch abkühlt, mit 5 bis 10 ccm

[1]) Simmonds-Denigès, vgl. Chemisches Centralbl. **1910**, 1992.

(je nach der Alkoholkonzentration) Fuchsindisulfit versetzt und die charakteristische rotviolette Färbung ruhig eintreten läßt, die bei weniger als 0,01 %igem Alkohol oft erst nach Stunden hervortritt.

Wichtig ist, daß man Reagenzien sowohl wie Gläser vorher sorgfältig auf ihre Abwesenheit von Alkohol untersucht, denn 0,5 mg Methylalkohol lassen sich noch ganz deutlich nachweisen.

Quantitativ bestimmten wir den Methylalkohol im Destillat auf folgende Weise nach Bourcart[1]). Unter 20 ccm $^n/_{10}$-Kaliumbichromatlösung im (150 bis 180 ccm fassenden) Reagensrohr wurden vorsichtig 10 ccm konz. SO_4H_2 geschichtet (falls Erwärmung eingetreten, so ohne zu schütteln sofort gut abkühlen).

Dann brachte man 5 bis 10 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Hilfe einer Pipette vorsichtig auf den Boden des Reagensglases, d. h. in die Schwefelsäureschicht, spülte unter Herausnehmen der Pipette diese vorsichtig innen und außen mit destilliertem Wasser gut ab und stellte das so beschickte Glas in ein ungeheiztes Wasserbad, das im Laufe von Stunden auf die Temperatur 50 bis 60° gebracht wurde. Danach schüttelte man den Inhalt des Glases einmal vorsichtig auf, erwärmte wiederum 1 Stunde lang im Wasserbad, schüttelte wiederum um, erwärmte von neuem und fuhr so lange damit fort, bis sich die olivengrüngefärbte Lösung nicht mehr veränderte. Nach dem Abkühlen der Lösung wurde sie auf ungefähr 250 bis 300 ccm mit destilliertem Wasser verdünnt, mit 10 bis 20 ccm absolut reinem Tetrachlorkohlenstoff oder Chloroform und dann mit 5 bis 10 ccm einer 10%igen Kaliumjodidlösung versetzt; genau nach $^1/_2$ Stunde wurde das ausgefallene Jod, das vom Tetrachlorkohlenstoff festgehalten wurde, mit $^n/_{10}$-Natriumthiosulfat zurücktitriert; Indicator: Stärkelösung, obgleich der Umschlag vom Gelben zum Grünen ebenfalls sehr scharf verläuft

Die Reaktionen werden kurz durch folgende Gleichungen demonstriert:

1. $CH_3OH + 3O = CO_2 + 2H_2O$,

2. $Cr_2O_7K_2 + 4SO_4H_2 + CH_3OH = CO_2 + SO_4K_2 + Cr_2(SO_4)_3 + 6H_2O$.

Der Überschuß an vorgelegtem Kaliumbichromat wird durch Jodkali reduziert:

3. $Cr_2O_7K_2 + 6KJ + 7SO_4H_2 = Cr_2(SO_4)_3 + 4K_2SO_4 + 6J + 7H_2O$.

Da 1 Mol $Cr_2O_7K_2$ 3 Atome Sauerstoff abgibt, so oxydiert 1 ccm $^n/_{10}$-Kaliumbichromat 0,5333 mg Methylalkohol.

Wie die folgende Generaltabelle zeigt, sind im ganzen 10 Versuchsreihen ausgeführt worden, davon 7 an Ratten und 3 an Hunden. Dazu kommt ein 11. Versuch (vgl. Tabelle Nr. VIII), in dem zwei Ratten getötet und, genau so wie bei den übrigen, ihr Gehalt an reduzierenden Stoffen bestimmt wurde. Man sieht,

[1]) Bourcart, Bull. soc. Ind. de Mulhouse 1889, 558; vgl. auch Imbert und Compan, Bull. soc. chim. 21, 315.

daß deren Menge sehr gering ist, pro Kilogramm Tier im Mittel 0,018 g Methylalkohol entsprechend, d. h. etwa $^{1}/_{20}$ der niedrigsten, bei Einatmung einer Luft mit einem Methylalkoholgehalt von 0,20 % gefundenen Werte.

Tabelle I.

Versuchsreihe Nr.	Tier Nr.	Körpergewicht g	Dauer der Atmung	Prozentgehalt der Luft an Methylalkoholdampf	Spannung des Methylalkoholdampfes mmHg	Vorhandene Menge d. Methylalkohols pro kg Tier g	Tierart	Bemerkungen
I	31	124	1 Std. 50 Min.	0,20	1,476	0,553	Ratte	Die Tiere verhalten sich bis zum Schluß ganz normal.
	32	274	1 „ 50 „	0,20	1,476	0,316	„	
	33	195	6 „ 43 „	0,23	1,697	0,324	„	
	34	162	6 „ 43 „	0,23	1,697	0,529	„	
	35	175	7 „ 56 „	0,27	1,993	0,471	„	
	36	133	7 „ 56 „	0,27	1,993	0,542	„	
II	1	198	2 Std.	0,48	3,54	0,481	Ratte	Die Tiere sitzen meist still reagieren aber auf Beklopfen des Glaskastens wie normal. Die zum Schluß herausgenommenen schnuppern und laufen umher.
	2	130	2 „	0,48	3,54	0,660	„	
	3	115	4 „	0,48	3,54	0,636	„	
	4	105	4 „	0,48	3,54	?	„	
	5	128	8 „	0,432	3,18	0,836	„	
	6	145	8 „	0,432	3,18	0,620	„	
III	9	150	2 Std.	0,827	6,10	0,671	Ratte	Auch diese Tiere sitzen meist still, reagieren aber auf Klopfen mit Blinzeln. Aufrichten des Kopfes oder Erheben auf den Hinterkörper. Kein Taumeln beim Herausnehmen.
	10	161	2 „	0,827	6,10	0,669	„	
	11	115	4 „	0,822	6,06	1,052	„	
	12	116	4 „	0,822	6,06	1,413	„	
	13	118	8 „	0,882	6,49	1,978	„	
	14	159	8 „	0,882	6,49	2,082	„	
IV	19	134	2 Std.	2,25	16,6	0,980	Ratte	Während der ersten zwei Stunden ist das Verhalten der Tiere normal; die weiter im Kasten verbleibenden sitzen bald mit gesenktem Kopf. Beim Anklopfen zucken sie zusammen und heben den Kopf. Am Ende liegen die beiden noch übrigen Ratten auf der Seite und reagieren nur wenig auf Klopfen.
	20	140	2 „	2,25	16,6	1,000	„	
	21	106	4 „	2,25	16,6	2,379	„	
	22	132	4 „	2,25	16,6	2,020	„	
	23	102	8 „	2,25	16,6	4,304	„	
	24	126	8 „	2,25	16,6	4,355	„	
V	25	98	1 Std. 32 Min.	6,0	44,28	4,138	Ratte	1 Stunde nach Beginn liegen beide Tiere auf der Seite, Augen geschlossen. Auf Klopfen reagieren sie durch Zusammenzucken. Nach 2 Stunden zeigt die Ratte zeitweise Zuckungen des Vorderkörpers. Beim Herausnehmen liegt sie ruhig auf der Hand. Corneae reagieren äußerst schwach.
	26	176	2 „ 28 „	5,1	36,90	4,230	„	
VI	41	156	20 Std.	1,30	9,58	5,664	Ratte	Die Tiere liegen zum Schluß auf der Seite, reagieren nicht auf Klopfen. Augen offen. Beim Herausnehmen keine Reaktion.
	42	157	24 „	1,30	9,58	6,060	„	

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuchsreihe Nr.	Tier Nr.	Körpergewicht g	Dauer der Atmung	Prozentgehalt der Luft an Methylalkoholdampf	Spannung des Methylalkoholdampfes mmHg	Vorhandene Menge d. Methylalkohols pro kg Tier g	Tierart	Bemerkungen
VII	43	170	18 bis 20 Std.	3,16	23,28	12,78	Ratte	Die Tiere starben nach 18 bis 20stündigem Aufenthalt.
	44	173	18 „ 20 „	3,16	23,28	8,71	„	
VIII	39	158	—	—	—	0,0169	Ratte	Kontrolltiere. Getötet und destilliert, ohne Methylalkohol geatmet zu haben.
	40	124	—	—	—	0,0203	„	
IX	16	1220	4 Std. 35 Min.	3,7	27,3	1,09	Hund	Während 2 Stunden sind die Tiere normal, dann werden sie ruhig und legen sich auf die Seite. Beim Anklopfen erheben sie sich schwerfällig (nach 3 Stunden) und gehen unsicher umher. Beim Herausnehmen leichtes Schwanken beim Laufen.
	17	1072	8 „ 11 „	3,025	22,1	1,03	„	
X	28	264	1 Std. 52 Min.	1,07	7,89	0,353	Hund	Neugeborene Hündchen. Sie verhalten sich bis zum Schluß gleichmäßig normal.
	29	156	2 „ 55 „	1,15	8,49	0,933	„	
	30	166	3 „ 58 „	1,37	10,11	1,625	„	
XI	37	9800	24 Std.	0,15	1,124	0,262	Hund	Verhalten der Hunde am Schluß ganz normal. NH_3-Gehalt des Harns beträgt bei Hund 37: 2,4%, bei Hund 38: 2,14% des Gesamtstickstoffes.
	38	4400	24 „	0,199	1,468	0,432	„	

Diese Menge ist so gering, daß sie bei allen übrigen Versuchen nicht ins Gewicht fällt; sie ist demnach nicht in Abzug gebracht worden. —

Die in der Tabelle enthaltenen Werte stellen nun nicht diejenige Menge Methylalkohol dar, die von den Tieren aufgenommen wurde. Denn von dem aufgenommenen Quantum gelangt ein Teil zur Verbrennung. Wie groß dieser Anteil während der Zeit, in der die Tiere den Alkohol einatmeten, ist, läßt sich allerdings nicht genau sagen. Gemäß den Ergebnissen von Völtz und Dietrich[1]) kann er nur gering sein und mit der Quote, die von zugeführtem Äthylalkohol im Tierkörper verbrannt wird, nicht in Parallele gestellt werden.

Völtz und Dietrich brachten ihren Versuchshunden größere Mengen (2 ccm pro Körperkilo) Methylalkohol auf einmal in den Magen und fanden, daß nach 48 Stunden davon noch 37%

[1]) W. Völtz und W. Dietrich, Über die Beteiligung des Methylalkohols und des Äthylalkohols am gesamten Stoffumsatz im tierischen Organismus. Diese Zeitschr. **40**, 15, 1912.

vorhanden waren. 24 % wurden [mit dem Harn (2,8 %) und mit der Atemluft (21,5 %)] wieder ausgeschieden, so daß 39 % der eingeführten Menge verbrannt sein mußten. Wenn der Methylalkohol einer so schnellen Resorption aus dem Magendarmkanal unterläge wie die höheren Alkohole, müßte der Körper bei dieser Versuchsanordnung schnell mit Alkohol überschwemmt werden. Auf Grund der später mitzuteilenden Erfahrungen glauben wir allerdings, daß er erheblich langsamer resorbiert wird als die höheren homologen Alkohole. Immerhin wird der Körper auch den Methylalkohol bei Einbringung per os weit schneller in großer Menge aufnehmen, als das durch Einatmung geschieht. Ob die allmähliche Alkoholanreicherung des Körpers im letzteren Falle etwa zu einer quantitativ anderen Verbrennung führt, ist unbekannt.

Jedenfalls wird die anscheinende Schwerzersetzlichkeit des Methylalkohols im Tierkörper zur Folge haben, daß während der verhältnismäßig nur kurzen Versuchsdauer — nur in zwei Reihen ging sie über 8 Stunden hinaus — ein erheblich kleinerer Teil desselben zur Verbrennung kam als in den Völtz-Dietrichschen Versuchen. Für die Hunde könnte man auf anderem Wege die Menge des zur Verbrennung gelangten Methylalkohols berechnen, vorausgesetzt wieder, daß bei seiner Aufnahme aus der Atemluft seine Verbrennung die gleiche ist wie bei Aufnahme in den Magen. Nach Völtz und Dietrich (l. c.) nimmt nämlich der Methylalkohol zu 3 % an den Verbrennungsprozessen des Körpers teil. Die Umsatzgröße von Hunden — wenigstens von größeren Hunden — ist bekannt, so daß man für die 24 Stunden dauernde Versuchsreihe XI den verbrannten Anteil ermitteln könnte. Auch dieser Wert wäre aber unsicher, da ja der Körper sich erst allmählich mit dem Methylalkohol belädt. Er wäre ein Maximalwert. —

Auf alle Fälle ist die aufgenommene Alkoholmenge beträchtlicher, als die Zahlen der Tabelle es angeben. Das ist an sich ein Mangel; aber einerseits lag uns bei den uns interessierenden Fragen weniger an der sicheren Kenntnis der Werte für die Alkoholaufnahme als an einer Orientierung über die Beziehung zwischen der Alkoholdampfspannung in der Atemluft und der im Körper vorhandenen Alkoholmenge. Läßt man die Atmung lange genug dauern, d. h. so lange, daß ein Gleich-

gewichtszustand zwischen der Alkoholspannung der Atemluft und der der Gewebe zustande gekommen ist, so geben die Zahlen der Tabelle unmittelbar richtige Werte für diese Relation an, gleichgültig, wie der Umfang der Verbrennung sich gestaltet.

Andererseits ist im Hinblick auf die Bedürfnisse der Praxis, d. h. derjenigen Betriebe, in denen Holzgeist zur Einatmung gelangen kann, auch schon die annähernde Kenntnis der Alkoholmengen, ja selbst nur die der Größenordnung, in der sie sich bewegen, bei Zumischung von Alkoholdämpfen zur Luft der benutzten Räume von Wichtigkeit. —

Aus der Zusammenstellung der Versuche geht nun zunächst hervor, daß der Methylalkohol leicht von der Lungenoberfläche aus in den Körper aufgenommen wird und sich in ihm ansammelt.

Schon eine Beimischung von 0,2 bis 0,27% Methylalkohol zur Atemluft (vgl. Reihe I) führte in einem Zeitraum von ca. 2 bis ca. 8 Stunden zu einer Ansammlung von 0,32 bis 0,55 g (im Mittel 0,455 g) pro Kilogramm bei den Ratten; eine Einatmung durch 24 Stunden von 0,15 bis 0,2% zu einer solchen von 0,26 bis 0,43 g bei den Hunden (vgl. Reihe XI). Da man, wie im folgenden erörtert werden wird, im vorliegenden Falle eine Sättigung des Körpers für die benutzte Alkoholkonzentration annehmen kann, ergibt sich, daß die gleiche Methylalkoholkonzentration zur Aufnahme gleicher Alkoholmengen bei Hund und Ratte geführt hat.

Höhere Konzentrationen bewirkten eine entsprechende erheblichere Aufnahme.

Ein Blick auf die Tabelle zeigt nun, daß bei Einatmung von Methylalkohol in Konzentrationen über $^1/_2$% die Sättigung des Körpers mit Methylalkohol, also das Maximum der aufnehmbaren Menge, sehr langsam erreicht wird, so daß es selbst bei 8stündiger Atmung noch nicht erreicht worden ist. Mag für die Aufnahme diese oder jene gesetzmäßige Beziehung gelten, in jedem Falle muß mit der Dauer der Atmung die Aufnahme, entsprechend der schon vorhandenen Alkoholmenge, immer geringer werden, bis schließlich die in einem bestimmten Zeitintervall aufgenommene Alkoholmenge konstant wird und gleich der in demselben Zeitraum verbrannten und durch die Nieren abgegebenen Alkoholmenge.

Von denjenigen Versuchen, in denen letzteres Verhalten festzustellen ist, können wir sagen, daß sie uns das **Maximum** der im Körper zur Anlagerung kommenden Alkoholmenge angeben. Und diese Zahl ist es ja, die für das Verhältnis zwischen der Alkoholdampfspannung in der Atemluft und der aufgenommenen Menge in Betracht kommt. Ist gegen den Schluß der Atmung die Konstanz nicht erreicht, so war auch das Sättigungsmaximum noch nicht eingetreten.

In den Versuchsreihen I und II finden wir nun, daß das nach 2stündiger Einatmung im Körper vorhandene Alkohol-

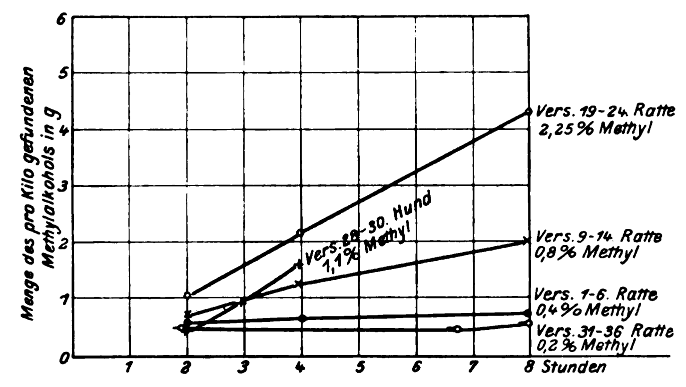


Fig. 2. Ansammlung des Methylalkohols bei verschiedenem Gehalt der Einatmungsluft an ihm.

quantum bei fortgesetzter Einatmung nicht weiter ansteigt. Die Maxima sind in Reihe I nach ca. 2 Stunden, nach $6^3/_4$ Stunden und nach 8 Stunden die gleichen. Auch in Reihe II finden wir nach 2, 4 und 8 Stunden die gleichen Werte. Nur bei einem Tier, das 8 Stunden atmete, übertrifft die Menge die sonst gefundene, bei einem bleibt sie nach 2stündiger Atmung hinter den übrigen zurück. Das Mittel beträgt 0,65 g pro Kilogramm.

Anders in den Rattenversuchen mit **über** $0,8^0/_0$ Methylalkoholgehalt (Reihen III und IV); hier ist die Aufnahme bis zu 8 Stunden immer noch erheblich ansteigend. Dasselbe ist in Reihe X bei den Hunden der Fall, die bis zu 4 Stunden 1,07 bis $1,37^0/_0$ Methylalkohol einatmeten. In Reihe IX dagegen scheint der Sättigungsgrad nach $4^1/_2$ Stunden nahezu erreicht zu sein.

Am übersichtlichsten werden diese Verhältnisse bei graphischer Darstellung (vgl. Fig. 2).

Da, wo die Sättigung nahezu oder ganz erreicht ist, erhalten wir eine annähernd horizontale Linie; da, wo mehr oder weniger zur Sättigung fehlt, eine Kurve, die um so steiler ansteigt, je weiter der Sättigungsgrad noch entfernt ist. Und er ist bei den Ratten nach gleichlanger Einatmung um so weiter entfernt, je höher die Konzentration des eingeatmeten Alkohols liegt.

Der Hund verhält sich in bezug auf die Schnelligkeit der Alkoholaufnahme scheinbar etwas anders als die Ratten; bei ihm scheint die Aufnahme in den Körper und die Sättigung weit langsamer als bei den Ratten zu erfolgen, wie aus einem Vergleich der Versuchsreihen IX bis XI mit den an Ratten angestellten hervorgeht. Es ist am nächstliegenden, diese Differenz aus Unterschieden in der Zirkulation, in der Blutversorgung der Gewebe zu erklären, möglicherweise kommen aber auch Verschiedenheiten der chemischen Beschaffenheit beider Tierarten mit in Frage oder solche in der Intensität der Alkoholverbrennung bei beiden Tierarten.

Die etwaigen Artdifferenzen müßten allerdings noch weiter ermittelt werden. —

Aus dem vorstehend beschriebenen, besonders bei den Ratten klar hervortretenden Verhalten müßte man schließen, daß, je höhere Konzentrationen von Methylalkohol geatmet werden, um so langsamer seine Anreicherung im Körper erfolgt.

Außer durch die vorstehende graphische Darstellung soll dieses eigentümliche Verhalten noch durch die folgende Tabelle veranschaulicht werden, in der die Alkoholmengen, die bei den verschiedenen Konzentrationen pro 1 mm Alkoholspannung in gleichen Zeiten angesammelt werden, angegeben sind.

Während bei 2 bis 3,2 mm Alkoholspannung in der Atmungsluft pro Millimeter Spannung in 2 Stunden 0,25 bis 0,23 mg pro Kilogramm Tier angesammelt werden, sinkt bei 6,1 mm Spannung die im Tier aufgestapelte Alkoholmenge in den ersten 2 Stunden auf 0,11 mg und bei 16,6 mm auf 0,06 mg während der ersten 2 Versuchsstunden.

Eine sichere Deutung dieser Ergebnisse können wir vorerst nicht geben.

Sie könnten sich erklären durch eine je nach der im Körper vorhandenen Alkoholmenge wechselnde Verbrennung desselben, derart, daß, je höher der Alkoholgehalt des Körpers ist, der der Verbrennung anheimfallende Anteil um so mehr anwächst. Dieser Punkt müßte weiterhin experimentell geprüft werden, denn bis jetzt liegen keine Versuche über die Beziehung zwischen Konzentration und Oxydation des Methylalkohols im Körper vor. Vom physikalisch-chemischen Standpunkte aus sind solche Beziehungen jedenfalls nicht von der Hand zu weisen.

Tabelle II.

Versuchsreihe Nr.	Dauer der Atmung Std.	Alkoholspannung mm Hg	Aufgen. Alkoholmenge pro kg Körpergewicht mg	Aufgen. Alkoholmenge pro kg und mm Alkoholspannung in 2 Std. mg	Tierart
I	2—8	**2,0**	0,506	**0,25**	**Ratte**
II	2—8	**3,18**	0,72	**0,23**	"
III	2	**6,10**	0,67	**0,11**	"
	4	**6,06**	1,23	**0,09**	"
	8	**6,49**	2,03	**0,06**	"
IV	2	**16,60**	0,99	**0,06**	"
	4	**16,60**	2,20	**0,07**	"
	8	**16,60**	4,33	**0,06**	"

Die auffallende Langsamkeit der Anreicherung des Körpers mit Methylalkohol ergibt sich schon aus der bloßen Beobachtung des Verhaltens der Tiere (vgl. die Bemerkungen zu Tabelle I).

Die Ratten, die im Mittel 0,45 % Methylalkohol atmeten und dabei maximal 0,65 g pro Kilogramm im Durchschnitt aufnahmen, verhalten sich wie normale; sie schnuppern und laufen nach dem Herausnehmen aus dem Kasten umher. — Die Tiere, die ebensolange 0,85 % atmeten, sind anscheinend schon in ihrem Benehmen verändert bei einem Gehalt von 2 g Methylalkohol pro Kilogramm. — Bei Atmung der fast 3fachen Alkoholkonzentration (2,25 %) erscheinen die Tiere nach 2 Stunden noch normal, dann erst treten Störungen in ihrem Befinden auf, und nach 7 bis 8 Stunden liegen sie benommen auf der Seite und sind fast reaktionslos. Dabei enthalten sie 4,3 g Alkohol pro Körperkilogramm.

Läßt man dagegen Ratten nur 1,3 % Alkohol, also etwa die Hälfte der vorgenannten Konzentration, aber 20 bis 24 Stunden atmen, so enthalten sie zum Schluß 5,7 bis 6,0 g Methylalkohol und zeigen auf Berührungen keine Reaktion mehr.

Tiere, die 5,1 bis 6,0 % reinen Holzgeist $1^1/_2$ Stunden einatmen, zeigen noch Reaktion; auch nach $2^1/_2$ Stunden läßt sich noch der Lidschlag bei Berühren der Corneae auslösen. Demgegenüber sterben Tiere, die 18 bis 20 Stunden nur halb so stark konzentrierten Alkohol (3,16 %) einatmen. Die ersteren hatten dabei 4,1 bis 4,2 g Methylalkohol aufgenommen, die letzteren 8,7 bis 12,7 g. — Die Hunde zeigten nichts Abnormes, nachdem sie 24 Stunden 0,15 bis 0,2 % Methylalkohol geatmet hatten; das gleiche negative Ergebnis zeigt sich am neugeborenen Hunde bei bis zu 4 stündiger Atmung von 1,07 bis 1,37 % Methylalkohol. Dabei enthalten sie bis zu 1,6 g Alkohol pro Kilogramm. Dagegen boten ältere Hunde schon bei 1,0 g Methylalkohol pro Kilogramm Zeichen von Affektion des Nervensystems, nachdem sie 4 bis 8 Stunden 3,0 bis 3,7 % Methyl eingeatmet hatten.

Diese Befunde zeigen, daß die oben zitierten Müllerschen Versuche, der 1 Stunde lang Methylalkohol von 5 % einatmen ließ, nichts für die Unschädlichkeit oder Schädlichkeit desselben beweisen können. —

Weitere Gesetzmäßigkeiten in der Aufnahme des Methylalkohols durch die Atemwege aufzudecken, ist schwierig, da wir ja nur indirekt aus der zum Schluß im Tier vorhandenen Menge auf die aufgenommene zurückschließen. Insbesondere gestattet das von uns gesammelte Versuchsmaterial nicht, bestimmte und für alle Versuche zutreffende Beziehungen zwischen dem Maximum der Aufnahme und der Alkoholspannung der Atemluft zu erkennen.

Über eine spezifische Bindung der Alkohole von irgendeinem Gewebsbestandteil, etwa entsprechend der des Sauerstoffs oder des Kohlenoxydgases an das Hämoglobin ist nichts bekannt. Man sollte erwarten, daß die Ansammlung der Alkohole nach rein physikalischen Gesetzen derart vor sich geht, daß proportional mit den Änderungen der Alkoholspannung in der Atemluft die in maximo aufgenommenen Alkoholmengen sich ändern. Allerdings ist damit zu rechnen, daß individuelle

Differenzen vorhanden sind, so daß trotz gleicher Alkoholspannungen bei verschiedenen Tieren verschiedene Alkoholmengen sich finden. Die Ursache hierfür wäre ein verschiedener Gehalt an alkoholbindenden Körperbestandteilen; aber man sollte a priori nicht annehmen, daß diese individuellen Differenzen so erheblich sind, daß sie ein die Aufnahme regelndes Gesetz verwischten. Im vorliegenden Falle könnten wir ein solches ja nur durch Vergleichung der an zahlreichen Tieren gewonnenen einzelnen Werte erkennen.

Jedenfalls erweisen unsere Versuche die physikalische Bindung nicht.

In Betracht kommen nur die Versuchsreihen an Ratten I, II und VI. Im Mittel steigt in ihnen die Methylalkoholspannung von 1,722 mm in I auf 3,42 mm in II und auf 9,58 mm in VI, d. h. um 100 °/₀ zwischen I und II und um 457 °/₀ zwischen I und III.

Die aufgenommenen Alkoholmengen betrugen dabei pro Körperkilogramm in I = 0,455 g, in II = 0,647 g, in VI = 5,86 g; d. h. sie stiegen um 42,2 °/₀ in II, um 1190 °/₀ in III gegenüber I.

Ein Parallelismus zwischen Spannung und Menge ist also nicht zu erkennen.

Nun ist allerdings die Zahl unserer Versuche zu gering und außerdem sind, wie ein Blick auf die Zahlen der Tabelle I lehrt, die individuellen Differenzen bei ganz gleichen äußeren Bedingungen so beträchtlich, daß die Möglichkeit rein physikalischer Bindung des Methylalkohols vorläufig nicht geleugnet werden kann.

Betrachtet man die Tabelle näher und vergleicht die pro Kilogramm aufgenommenen Mengen mit den Körpergewichten der Tiere, für die sie berechnet sind, so findet sich das eigentümliche Verhalten, daß von zwei gleichgehaltenen Tieren, die in ihren Gewichten sich erheblich unterscheiden, immer das schwerere weniger Alkohol (auf das Körperkilo berechnet) aufgenommen hat, das leichtere mehr.

Da dieses Verhalten in den Versuchsreihen I, II und IV sechsmal regelmäßig wiederkehrte, konnte es nicht gut auf einem Zufall beruhen. Die schwereren Ratten dürften als die

fettreicheren angesehen werden; dann hätten die fetten Tiere weniger Methylalkohol zu binden vermocht als die mageren. Das erschien zunächst etwas überraschend, und wir wollten deshalb durch einen besonderen Versuch, in dem wir ein sehr fettes und ein sehr mageres Tier verglichen, feststellen, ob die Differenz sich bestätigte und besonders stark ausgeprägt war.

Zu diesem Zwecke brachten wir zwei Hunde genau in derselben Weise wie sonst für 24 Stunden in eine annähernd gleich konzentrierte Alkoholatmosphäre. Beide hatten ursprünglich ein Gewicht von ca. 7,5 kg. Der eine wurde gemästet, so daß er, als er zum Versuch benutzt wurde, 9,5 kg wog; der zweite hungerte längere Zeit, so daß er nur noch mit einem Gewicht von 4,4 kg in den Versuch kam.

Das Ergebnis findet sich in Reihe XI der Tabelle I, Tier 37 und 38. Es ist nicht nur in demselben Sinne ausgefallen wie die an den Ratten, vielmehr ist die Differenz in der Alkoholaufnahme hier noch erheblicher als in der Mehrzahl der Rattenversuche.

Während nämlich der fette Hund pro Kilogramm nur 0,262 g Methylalkohol aufspeicherte, fanden sich bei dem mageren 0,432 g, das sind 65% mehr als bei dem fetten.

Nur zwischen Ratte 31 und 32, deren Gewichtsdifferenz annähernd der der beiden Hunde entspricht, findet sich ein analoger Unterschied in der Alkoholaufnahme, nämlich ein Plus zugunsten der mageren um 70%, und ein ähnlicher (63%) zwischen Ratte 33 und 34 trotz geringeren Gewichtsunterschiedes.

Man rechnet gewöhnlich den Methylalkohol wegen seiner Zugehörigkeit zu den Alkoholen zu den lipoidlöslichen Stoffen. Als solcher hätte er, entgegengesetzt zu unseren Befunden, in größerer Menge in den fetten Tieren gefunden werden müssen. In der Literatur konnten wir ausreichende Untersuchungen über die Lipoidlöslichkeit des Methylalkohols nicht finden, und es scheint uns, als sei diese mehr per analogiam angenommen worden. Wir haben deshalb selbst eine Reihe einschlägiger Versuche angestellt, über die im zweiten Teile berichtet werden soll.

Hier sei zum Schluß noch die Frage erörtert, wieviel von dem mit der Atmung in die Lunge gelangenden

Methylalkohol im Körper wiedergefunden wird. Zieht man kurze, nur einige Stunden dauernde Perioden in Betracht, so spielt die indessen vor sich gehende Verbrennung eines Teiles des aufgenommenen keine erhebliche Rolle, ebensowenig die mit dem Harn etwa abgegebene Menge. Man kann dann die wiedergefundene Menge annähernd der aufgenommenen gleich setzen und hat damit ein Maß für den Übergang des in die Lungen gelangten Alkohols in den Körper.

Dieser Übergang ist natürlich im Beginne am reichlichsten, da hier die Spannungsdifferenzen des Methylalkohols im Lungeninnern und im Lungenblut am größten sind, allmählich muß er sinken, bis schließlich sich ein dynamisches Gleichgewicht ausbildet, wobei nur soviel übergeht, wie aus dem Körper wieder verschwindet. Die theoretisch erforderte allmähliche Abnahme des Durchtrittes durch die Lunge, d. h. die immer langsamer erfolgende Aufnahme des Alkohols in den Körper, wird sich im Experiment nur da deutlich zeigen, wo die Sättigung des Körpers mit Alkohol schnell erfolgt, also, wie vorstehend besprochen, bei geringen Beimischungen von Alkohol zur Atemluft (Reihe I und II). Bei größeren, bei denen während der Zeit, die die Versuche gewöhnlich dauerten, d. h. 8 Stunden, die aufgenommene Alkoholmenge vom Sättigungspunkt des Körpers noch mehr oder weniger weit entfernt ist, wird die immer geringer werdende Aufnahme wenig oder nicht klar zu erkennen sein (Reihe III und besonders IV).

Die Berechnung desjenigen Anteiles von der in die Lunge eingeatmeten Methylalkoholmenge, der in den Körper übergeht, gewissermaßen der „Ausnutzung“ des in den Lungen vorhandenen Alkohols seitens des Körpers ist einfach bei Hunden, bei denen man auf Grund des in der Literatur vorliegenden Zahlenmaterials die Atmungsgröße kennt. Bei den Ratten muß man die Ausnutzung auf einem Umwege ermitteln. Man weiß aus älteren Versuchen von Pott[1]), wie hoch sich die Kohlensäureausscheidung dieser Tiere stellt, man kann die Exspirationsluft bei ihnen mit 2 % Kohlensäure ansetzen und kann durch

[1]) Vgl. N. Zuntz, Physiologie der Blutgase in Hermanns Handbuch der Physiologie 4, 2, S. 145, 1878.

eine einfache Proportion berechnen, wieviel Luft die Tiere ein- bzw. ausatmen müssen, um die produzierte Kohlensäuremenge zur Ausscheidung zu bringen.

Die Kohlensäureausscheidung der Ratte pro Kilogramm und Stunde beträgt nach Potts Versuchen 4,5 g im Mittel.

In dieser Weise sind die in der folgenden Tabelle III enthaltenen Werte berechnet worden. Sie sind natürlich nur Näherungswerte, geben aber doch einen Anhalt für die Größenordnung, um die es sich handelt.

Tabelle III.

Versuchsreihe	Tier Nr.	Dauer der Atmung	Methylalkoholgehalt der inspirierten Luft in %	Methylalkoholgehalt der inspirierten Luft in mm Spannung	Pro Kilogramm wurden an Methylalkoholdampf eingeatmet ccm	Pro Kilogramm wurden an Methylalkoholdampf vom Tier aufgenommen ccm	Von der eingeatmeten Menge bleiben im Tier zurück %	Bemerkungen
I	31	1 Std. 50 Min.	0,20	1,47	440	387	88,0	Ratten
	32	1 „ 50 „	0,20	1,47	440	221	50,2	
	33	6 „ 43 „	0,23	1,70	1691	227	13,4	
	34	6 „ 43 „	0,23	1,70	1691	370	22,0	
	35	7 „ 56 „	0,27	1,99	2372	330	13,9	
	36	7 „ 56 „	0,27	1,99	2372	379	16,0	
II	1	2 Std.	0,48	3,54	1092	336	30,8	Ratten
	2	2 „	0,48	3,54	1092	462	42,2	
	3	4 „	0,48	3,54	2240	445	20,0	
	4	8 „	0,43	3,18	4032	434	10,7	
	5	8 „	0,43	3,18	4032	585	14,5	
III	9	2 Std.	0,827	6,10	1924	469	24,4	Ratten
	10	2 „	0,827	6,10	1924	469	24,4	
	11	4 „	0,822	6,06	3840	735	20,0	
	12	4 „	0,822	6,06	3840	989	25,7	
	13	8 „	0,882	6,49	8272	1386	16,7	
	14	8 „	0,882	6,49	8272	1456	17,6	
IV	19	2 Std.	2,25	16,6	5273	700	13,3	Ratten
	20	2 „	2,25	16,6	5273			
	21	4 „	2,25	16,6	10 543	1540	14,6	
	22	4 „	2,25	16,6	10 543			
	23	8 „	2,25	16,6	21 093	3031	14,3	
	24	8 „	2,25	16,6	21 093			
V	25	1 Std. 32 Min.	6,0	44,28	10 752	2898	27,0	
IX	16	4 Std. 35 Min.	3,7	27,3	10 175	763	7,5	Hunde
	17	8 „ 11 „	3,025	22,1	14 852	721	4,9	

Die Tabelle zeigt, daß bei den Ratten bei ganz niedrigen Methylalkoholspannungen erhebliche Mengen von dem in der Atemluft befindlichen Alkohol durch die Lungenoberfläche hindurchgehen. Während der ersten 2 Stunden werden aus der Lungenluft vom Körper aufgenommen bei 0,2% (= ca. 1,5 mm Spannung) 50,2 bis 88,0% des eingeatmeten Methylalkohols. Bei 0,48% (= 3,5 mm Spannung) berechnen sich nur noch 30,8 bis 42%; bei 0,83% (= 6,1 mm Spannung) 24%; bei 2,25% (= 16,6 mm Spannung) 13,3%.

Die Ausnutzung wird bei zunehmender Spannung scheinbar immer geringer.

Wir sagen scheinbar; denn die Deutung ist kompliziert und wir dürfen die im letzten Stabe der Tabelle III enthaltenen Zahlen nicht ohne weiteres für das Maß der Ausnutzung des eingeatmeten Alkohols, d. h. für die durch die Lungenwand in den Körper übergetretene Menge nehmen. Sie sind ja auf Grund der im Körper wiedergefundenen Alkoholmengen berechnet und, wie schon erwähnt, können hier Verschiedenheiten in dem der Oxydation anheimfallenden Anteil eine Rolle spielen.

Am sichersten sind jedenfalls die ersten Werte der Reihe I, die zeigen, daß der Methylalkohol bei niedriger Spannung aus der Lunge sehr leicht in das Lungenblut überzugehen vermag (zu 50 bis 88%).

Berechnet man, wieviel bei den höheren Spannungen verbrannt sein müßte, um aus einer mit steigender Alkoholspannung sich etwa steigernden Verbrennung die anscheinend prozentisch geringere Aufnahme zu erklären, so kommt man zu so unwahrscheinlich hohen Oxydationswerten, wenigstens bei Zugrundelegung der Völtz-Dietrichschen Zahlen, daß man die rechnerisch festgestellte geringere Ausnutzung kaum als allein durch gesteigerte Verbrennung vorgetäuscht betrachten kann. Man muß doch an eine, wenn auch nicht in dem Maße, wie die Zahlen der Tabelle angeben, verminderte Aufnahme durch die Lungenwand denken. Allerdings muß zugleich in Betracht gezogen werden, daß unter anderen Bedingungen als den von Völtz und Dietrich gewählten auch der Umfang der Verbrennung des Methylalkohols sich ändern könnte. Hier liegt eine noch weiterhin zu bearbeitende Aufgabe vor.

Die Tabelle zeigt auch, wie mit Fortsetzung der Einatmung und damit fortschreitender Verminderung der Differenz der Methylalkoholspannung in Lungenluft und im Körperinnern die Ausnutzung immer mehr zurückgeht (vgl. Reihe I bis III), um schließlich in allen Versuchsreihen annähernd auf demselben Niveau zu bleiben, und zwar zwischen 10% und 17%.

Man könnte versucht sein, aus diesen letzteren Werten Schlüsse auf den Umfang der Verbrennung des Methylalkohols im Körper zu ziehen. Jedoch scheint uns unser Material dafür doch noch nicht ausreichend zu sein.

Beim Hunde scheint, soweit aus 2 Versuchen sich ein Schluß ziehen läßt, die Ausnutzung des Methylalkohols der Lungenluft geringer zu sein als bei der Ratte. Sie betrug, bei der allerdings hohen Spannung von 22 bis 27 mm Hg, nur $7^1/_2$% der inspirierten Menge in $4^1/_2$ Stunden, und nur 5% in $8^1/_4$ Stunde.

Diese geringere Ausnutzung, mit der die langsamere Anreicherung des Hunde- als des Rattenkörpers in Zusammenhang steht, kann durch langsamere Zirkulation erklärt werden. Eventuell kommen andere chemische Bedingungen für die Alkoholspeicherung und Alkoholverbrennung in Betracht.

II. Versuche über die Fettlöslichkeit des Methylalkohols und über seinen Teilungsquotienten zwischen Öl und Wasser.

Die oben S. 243 ff. erwähnten Beobachtungen, wonach fette Tiere ceteris paribus weniger Alkohol aufspeichern als magere, veranlaßte uns, eine Reihe verschieden angeordneter Versuche auszuführen, die das Verhältnis der Methylalkoholaufnahme in Fett bzw. Wasser betrafen.

Die ersten Versuche wurden in Anlehnung an die Anordnung der Tierexperimente so ausgeführt, daß wir unter stetigem Schütteln Luft, deren Menge durch eine Gasuhr gemessen war, durch Olivenöl oder Blutserum hindurchperlen ließen. Die Luft war zuvor durch eine Vorlage mit Methylalkohohollösungen von in den verschiedenen Versuchen wechselnder Konzentration hindurchgegangen, und die Bestimmung der Methylalkoholmenge in der Vorlage vor und nach dem Versuch ließ unter Berücksichtigung der hindurchgegangenen Luftmenge die Methylalkoholkonzentration der Luft berechnen.

Diese Versuche hatten die in der folgenden Tabelle mitgeteilten Ergebnisse.

Tabelle IV.

Temperatur 18 bis 20° C.

Versuch Nr.	Flüssigkeit	Konzentration des Methylalkohols in der Luft Vol.-%	Methylalkohol in 100 ccm Flüssigkeit mg	Dauer der Alkoholdurchleitung
1	Olivenöl	0,30	41,44	2 Std.
		0,30	46,00	4 Std. 30 Min.
		0,30	48,00	7 Std.
2	"	0,33	40,92	35 Min.
		0,33	41,82	50 "
		0,33	42,72	1 Std. 5 Min.
		0,33	42,80	1 " 20 "
		0,33	42,80	1 " 35 "
3	"	0,45	47,40	15 Min.
		0,45	57,20	30 "
		0,45	71,60	45 "
		0,45	71,20	60 "
4	"	1,125	81,20	40 "
		1,125	92,72	2 Std. 10 Min.
		1,125—1,38	107,60	4 " 10 "
5	Blutserum	0,30	1013,0	2 Std. 5 Min.
		0,30	1055,0	4 " 5 "
		0,30—0,32	1275,0	6 " 5 "
6	"	0,60	1575,0	2 Std.
		0,60	1968,0	3 "
7	"	0,39	608,0	30 Min.
		0,39	662,4	60 "
		1,80	734,4	30 "
		1,80	1087,2	60 "
		1,50	1168,8	90 "

Zunächst zeigt sich auch bei diesen Versuchen in vitro, daß die Aufnahme des Methylalkohols sehr langsam erfolgt. Trotz ununterbrochenen Schüttelns genügte bei keiner Versuchsreihe, abgesehen von der Nr. 3, 1 Stunde, um die unter den gegebenen Bedingungen maximale Alkoholmenge aufnehmen zu lassen.

Das gilt nicht nur für das Olivenöl. Das Blutserum sättigt sich in ähnlich langsamer Weise. Aber die absoluten Mengen von Methylalkohol, die das Blutserum aufnimmt, liegen auf einem ganz anderen Niveau als die vom Öl absorbierten.

Bei den gleichen Alkoholspannungen (von 0,3% gleich 2,25 mm) in Versuch 1, 2 und 5 hat das Blutserum das

20 bis 25fache der vom Öl aufgenommenen Menge zurückgehalten und ist vielleicht noch nicht am Ende der Sättigung angelangt. Bei der doppelten Spannung (0,6 %) hat es in 3 Stunden die 18fache Menge derer absorbiert, die sich im Olivenöl nach 4 Stunden bei im Mittel 1,25 % fand.

Diese Zahlen sollen nur die gewaltigen Größenunterschiede zeigen, die zwischen der Methylalkoholaufnahme in Öl und Wasser bestehen. Über die gesetzmäßigen Beziehungen, die hier vorliegen müssen, können sie nichts Sicheres aussagen, da die Sättigung nicht in allen Versuchen eine vollkommene geworden war.

Die Öl- oder sagen wir Lipoidlöslichkeit des Methylalkohols ist also äußerst gering und tritt gegenüber der Löslichkeit in wässerigem Medium ganz zurück.

Die Lipoidlöslichkeit der Alkohole beginnt eigentlich erst beim Propylalkohol. Wie wir uns überzeugten, kann man bei Zimmertemperatur nur eine höchstens 4 %ige ölige Lösung von Methylalkohol erhalten; 6 Teile auf 100 lösen sich nicht mehr. Beim Äthylalkohol erhält man noch eine 8 %ige, aber keine 10 %ige ölige Lösung mehr. Erst der Propylalkohol mischt sich mit Öl in allen Verhältnissen. Der Isopropylalkohol löst sich noch zu 40 %, nicht mehr zu 60 %. Der Butylalkohol — normaler und tertiärer — mischt sich in jedem Verhältnis.

Es nehmen also nicht nur der Methyl-, sondern auch der Äthylalkohol in ihrer Lipoidlöslichkeit unter den Alkoholen eine besondere Stellung ein. — Da wir es im tierischen Organismus nebeneinander gewissermaßen mit zwei Phasen zu tun haben, einer wässerigen und einer lipoiden, muß angesichts der geringen Löslichkeit des Methylalkohols in Lipoiden, und nicht viel anders verhält sich der Äthylalkohol, das Teilungsverhältnis sich derart einstellen, daß die Hauptmenge in den wässerigen Bestandteilen gelöst bleibt.

Das erweisen eigentlich schon die auf Tabelle IV zusammengestellten Versuche.

Wir haben aber noch einige weitere Versuche angestellt, in denen direkt der Teilungsquotient zwischen Öl und Wasser für Methylalkohol ermittelt werden sollte. Wir

brachten gleiche Volumina Olivenöl und einer Lösung von Methylalkohol in destilliertem Wasser — und zwar nahmen wir in den verschiedenen Versuchen verschieden konzentrierte Methylalkohollösungen — in einen Schütteltrichter.

In einigen Versuchen wurde während 24 bis 48 Stunden häufig geschüttelt, in anderen ununterbrochen im Schüttelapparate. Die Schüttelgefäße waren dabei fast vollkommen mit Flüssigkeit gefüllt. Zum Schlusse wurde die Entmischung abgewartet und im wässerigen Anteil nach Sodazusatz die Methylalkoholmenge bestimmt.

Die Ergebnisse finden sich auf Tabelle V.

Tabelle V.

Teilungsverhältnis von Methylalkohol zwischen Öl und Wasser.

Versuchs-Nr.	Die wässerige Methylalkohollösung enthält Alkohol		Teilungsverhältnis des Methylalkohols zwisch. Wasser und Öl (Wasser = 100)
	vor dem Schütteln Gew.-%	nach dem Schütteln mit gleichen Volumina Öl Gew.-%	
1	9,13	8,91	100 : 2,46
2	1,93	1,88	100 : 2,80
3	22,90	22,33	100 : 2,70
4	10,25	9,99	100 : 2,536
5	24,33	23,70	100 : 2,58

Die Tabelle zeigt, daß, gleichgültig um welche Alkoholkonzentration es sich handelt, das Teilungsverhältnis des Methylalkohols zwischen Wasser und Öl stets konstant ist und derart, daß etwa $^1/_{40}$ seiner Menge auf Öl, $^{39}/_{40}$ auf Wasser entfallen.

Schlußsätze.

Bei Gegenwart schon kleiner Mengen von Methylalkohol in der Atemluft (0,2 $^0/_0$) werden nicht unbeträchtliche Mengen davon in den Körper aufgenommen.

Die Aufnahme geschieht langsam. Bei 0,2 $^0/_0$ bis gegen 0,5 $^0/_0$ ist die Sättigung des Körpers für die betreffende Spannung nach 2 Stunden erreicht. Bei höheren Konzentrationen dauert die Zeit bis zur Sättigung erheblich länger, so daß sie z. B. bei 2 $^1/_4$ $^0/_0$ nach 8 Stunden noch lange nicht erreicht ist.

Fette Tiere nehmen unter gleichen Bedingungen erheblich weniger Methylalkohol auf als magere.

Das hängt mit der geringen Lipoidlöslichkeit des Methylalkohols zusammen.

Der Methylalkohol kann kaum als lipoidlöslich bezeichnet werden. (Auch der Äthylalkohol ist wenig lipoidlöslich.) Die Lipoidlöslichkeit der Alkohole beginnt erst mit dem Propylalkohol.

Das Teilungsverhältnis des Methylalkohols zwischen Öl und Wasser ist ca. $2^1/_2 : 100$.

Versuche über einseitige Ernährung.

I. Mitteilung.

Von

Paul Tachau.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut zu Straßburg.)

(Eingegangen am 2. Juni 1914.)

Mit 4 Figuren im Text.

I. Vorbemerkungen.

Nach den Erfahrungen, die Oseki[1]) kürzlich aus dem hiesigen Institute veröffentlicht hat, besitzen wir im Kommißbrot ein Futter, das alle für die Maus notwendigen Bestandteile enthält. Gelegentlich einer besonderen Versuchsreihe wurde nun beobachtet, daß Zusätze von Fett, Kohlenhydraten und Salzen zu demselben ein baldiges Eingehen der Tiere zur Folge hatte. Danach erwies sich eine quantitativ und qualitativ zureichende Nahrung zur Erhaltung des Lebens ungeeignet, wenn das Verhältnis der einzelnen Nährstoffe zueinander eine starke Verschiebung erfahren hatte. Auf Vorschlag von Herrn Prof. Hofmeister habe ich es versucht, diese Erscheinungen experimentell zu verfolgen, zumal da den ungünstigen Folgen einer einseitigen, d. h. quantitativ unzweckmäßig zusammengesetzten Nahrung auch beim Menschen, ganz besonders beim Säugling, hervorragende klinische Bedeutung zukommt.

Ich konnte bei meinen Versuchen von den seit Stepp[2]) im hiesigen Institute gesammelten Erfahrungen Nutzen ziehen. Mäuse schienen hauptsächlich deshalb als Versuchstiere geeignet, weil von ihnen eine größere Zahl gleichzeitig in den Versuch genommen, der Versuch zu jedem beliebigen Zeitpunkte ab-

---

[1]) Oseki, diese Zeitschr. 65, 158, 1914.

[2]) W. Stepp, diese Zeitschr. 22, 452, 1909.

gebrochen und die Zusammensetzung des ganzen Tierkörpers analytisch leicht festgestellt werden konnte. Durch eine möglichst große Zahl von Versuchen durfte man am ehesten erwarten, über die durch die verschiedenen Ernährungsweisen gesetzten typischen Veränderungen Aufschluß zu erhalten.

Ähnliche Versuche sind schon von Weigert[1]) in Angriff genommen, aber wieder aufgegeben worden, weil die Mäuse bei einseitiger Ernährung frühzeitig zugrunde gehen. Wegen ihrer relativ großen Körperoberfläche haben diese kleinen Tiere nämlich einen äußerst lebhaften Stoffwechsel. Sie unterliegen infolgedessen auch dem Hunger und den Schädigungen durch eine fehlerhafte Ernährung sehr bald. Für die Beantwortung gewisser prinzipieller Fragen ist dies kein Nachteil.

Die Mäuse wurden in der im Institut üblichen Weise in Einzelkäfigen auf Torfstreu gehalten. Das Futter bestand in den Hauptversuchen aus Kommißbrot, dem Rohrzucker, Fett oder Salze (Chlornatrium, Natriumphosphat, Natriumsulfat, Natriumlactat) in bestimmter Menge zugesetzt wurden. Um den Tieren eine Auswahl zwischen den gereichten Stoffen unmöglich zu machen, geschah in fast allen Fällen die Zubereitung so, daß das frische Kommißbrot — in kleine Würfel geschnitten — mit Lösungen der verschiedenen Zusätze von bestimmter Konzentration imprägniert und darauf 12 Stunden im Luftstrom bei 40° getrocknet wurde. Die Imprägnierung mit den Rohrzucker- und Salzlösungen geschah im Vakuum, um den störenden Einfluß der die Poren ausfüllenden Luft zu beseitigen. Als Fett kam Palmin zur Verwendung. Dieses wurde geschmolzen und die Brotstücke etwa $^1/_2$ Stunde bei 40° damit getränkt. Bei diesem Verfahren machte sich der Übelstand unangenehm geltend, daß infolge der ungleichen Porosität und der dadurch bedingten verschiedenen Aufnahmefähigkeit des Brotes die Zusätze nicht ganz gleichmäßig dosiert werden konnten.

Das mußte sich vermeiden lassen, wenn man zu getrocknetem, fein zermahlenem Kommißbrot Zucker und Salze in fein gepulverter Substanz oder geschmolzenes Fett hinzufügte und gleichmäßig verteilte. In den so angestellten Versuchen gingen aber die Tiere bei denselben Mischungen, die in der vorher beschriebenen Zubereitung chronische Krankheitsbilder hervorriefen, sehr rasch ein (s. u.). Wurden die Zusätze vermindert, so konnten die Tiere zwar länger am Leben erhalten werden, boten aber

[1]) R. Weigert, Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 256, 1905.

ganz andere Erscheinungen dar. Deshalb mußte die ursprüngliche Anordnung wieder aufgenommen und auf die völlige Gleichmäßigkeit des Futters verzichtet werden.

Aus Tabelle I ist ersichtlich, wieviel Kommißbrot eine ausgewachsene Maus täglich frißt[1]). Daneben habe ich die Energiewerte des Verzehrten in runden Zahlen angeführt[2]).

Tabelle I.

Tägliche Nahrungsaufnahme der mit Kommißbrot gefütterten Mäuse.

Nr.	Gewicht g	Kommißbrot pro Gramm Körpergewicht g	Calorien pro Gramm Körpergewicht
9	13,9	0,46	1100
26	15,6	0,36	900
31	15,7	0,37	900
22	15,9	0,34	850
5	16,0	0,40	1000
28	16,4	0,43	1050
21	16,9	0,37	900
18	17,2	0,38	900
15	17,2	0,37	900
23	17,4	0,32	800
25	18,1	0,36	900
20	18,8	0,35	850
29	18,9	0,33	800
30	19,4	0,35	850
24	19,7	0,39	950
3	22,8	0,36	900
4	24,1	0,35	850
	Mittel . .	0,37	900

Die Tiere konnten bei demselben Futter über 2 Monate gehalten werden, sahen gut genährt aus und hatten ein glänzendes, glattes Fell. Ihre Gewichtskurve zeigte nur Schwankungen von wenigen Dezigrammen. Seltener waren größere Gewichtsabnahmen

[1]) Um in den folgenden Tabellen (I, IIb, VIb, VIIb) miteinander vergleichbare Zahlen für die Nahrungsaufnahme zu erhalten, wurden jedesmal die auf 1 g des Körpergewichtes entfallende Nahrungsmenge berechnet.

[2]) Die Berechnung der Grammcalorien in den folgenden Tabellen geschah nach den in Königs Chemie der Nahrungsmittel (1, 676, 1903, 4. Aufl.) mitgeteilten Analysen von elsässischem Kommißbrot. Dieses enthält im Mittel: 37% Wasser, 52,27% Kohlenhydrate, 6,79% Eiweiß, 0,35% Fett, 2,43% Rohfaser und 1,46% Asche. Setzt man für 1 g Eiweiß oder Kohlenhydrate 4,1 Cal, für 1 g Fett 9,3 Cal ein, so erhält man für 1 g frisches Kommißbrot den Brennwert von 2,45 Cal = 2450 Grammcalorien.

vorhanden, die sich dann immer rasch wieder ausglichen. Fig. 1 zeigt die Gewichtskurve einer Maus, die täglich Kommißbrot im Wärmewerte von 900 cal verzehrte. Daneben ist zum Vergleich mit späteren Versuchen punktiert die Kurve eines Tieres

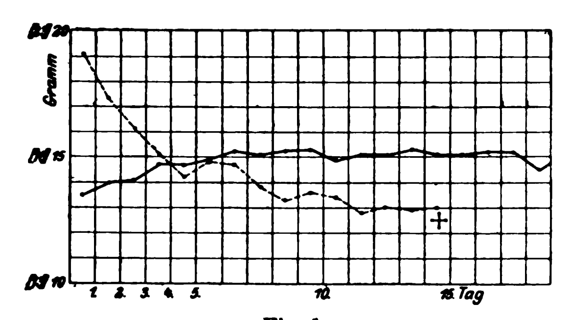


Fig. 1.
——— Maus 9. Normale Gewichtskurve.
------ Maus 42. Typus der Karenztiere.

eingetragen, das das gleiche Futter, aber im Werte von nur 500 cal, erhielt. Wie ersichtlich, sinkt von dem ersten Tage, an dem die Futtermenge reduziert wurde, das Gewicht sehr rasch ab, bis es nach 8 Tagen etwa $^2/_3$ des ursprünglichen Gewichtes erreicht hat. Auf dieser Höhe hält es sich kurze Zeit, bis das Tier unvermittelt eingeht.

II. Versuche mit Zusatz von Salzen.

Die umfangreichste Versuchsreihe wurde mit Natriumsalzen, aus naheliegenden Gründen speziell mit Kochsalz, angestellt. Es war leicht festzustellen, daß allzu reichliche Salzzufuhr die Ernährung beeinträchtigte und früher oder später, je nach der Menge des aufgenommenen Salzes, den Tod nach sich zog. Dabei trat jedoch in der Mehrzahl der Fälle ein Symptom auf, das unsere besondere Aufmerksamkeit auf sich lenkte. Mit Kommißbrot, das 2 bis 3% Kochsalz, oder diesem in bezug auf den Na-Gehalt entsprechend, Natriumphosphat und Natriumlactat enthielt (mit 5%iger NaCl-Lösung usw. getränkt war), konnten wir bei der Mehrzahl der Tiere die Bildung von Ödem hervorrufen, das sich an den seitlichen Partien des Kopfes, am Halse und am Ansatz der vorderen Extremitäten lokalisierte. Damit ist zum ersten Male gelungen, durch chronische Darreichung von Salzen bei sonst gesunden Tieren Ödem

zu erzeugen. Diese Tatsache ist deshalb von besonderem Interesse, weil auch beim menschlichen Säugling nach übermäßiger Salzzufuhr eine ähnliche Reaktionsweise beobachtet worden ist[1]). Allerdings macht sich bei widerstandsfähigen Kindern nur eine mehr oder weniger erhebliche Gewichtszunahme geltend, die man als „latentes" Ödem bezeichnet hat, und die beim Fortlassen des Salzes wieder verschwindet, und nur Individuen, deren Körperfunktionen durch vorausgegangene Schädigungen beeinträchtigt sind, lassen sichtbare Wasseransammlungen erkennen. Weit weniger empfindlich ist der erwachsene Mensch, der sich gewöhnlich mit einer tagelang fortgesetzten Salzzufuhr ohne Schwierigkeiten abfindet[2]), und nur bei überaus reichlicher Wasserzufuhr mit einer entsprechenden Gewichtszunahme reagiert[3]). Daß es vereinzelt bei Kachektischen gelungen ist, durch Salzzulagen Ödeme zu erzeugen[4]), ist nicht auffallend. Die bisher angestellten Tierversuche beziehen sich nur auf eine akute Salzüberschwemmung des Blutes[5]). Bei Hunden und Kaninchen konnte dadurch normalerweise kein Ödem erzeugt werden, dieses trat erst ein, wenn durch entzündliche oder toxische Schädigungen die Gefäßendothelien in ihrer Funktion beeinträchtigt waren[6]). Es schien deshalb aussichtsreich, die Bedingungen näher kennen zu lernen, auf die das Entstehen der Ödeme bei der gewählten Versuchsanordnung zurückzuführen war. Hierüber soll in der II. Mitteilung ausführlich berichtet werden.

Nachstehend gebe ich zunächst eine Übersicht über die einschlägigen Versuche mit **Kochsalz**fütterung:

---

[1]) W. Freund, Jahrb. f. Kinderheilk. **59**, 421, 1904. — L. F. Meyer, ebenda **71**, 1, 1910. — E. Schloß, ebenda **71**, 296, 1910. — N. Krasnogorski, ebenda **72**, 373, 1910. — Köppe, ebenda **73**, 9, 1911.

[2]) v. Wendt, Skand. Arch. f. Physiol. **17**, 211, 1905. — R. Tuteur, Zeitschr. f. Biol. **54**, 356, 1910.

[3]) v. Hoesslin, Deutsch. Arch. f. klin. Med. **103**, 272, 1911. — W. H. Veil, bisher unveröffentlichte Untersuchungen.

[4]) Widal, Lemierre und Cotini, Semaine méd. **1911**, 28.

[5]) Münzer, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **41**, 74, 1897. — R. Magnus, ebenda **42**, 250, 1898; **44**, 68 und 396, 1900; **45**, 210, 1901. — V. Engel, ebenda **58**, 346, 1904. — V. Walgren, ebenda **61**, 97, 1909. — J. Padtberg, ebenda **63**, 60, 1910.

[6]) R. Magnus, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **42**, 250, 1898.

Tabelle IIa. Kochsalzfütterungen.

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer Tage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Ödeme	Ablauf
5	7 tägige Vorperiode mit Kommißbrot, Gewicht 15,8 bis 16,0 g. Dann salzimprägniertes Kommißbrot.	18	16,0	17,4	Vom 11. Tage ++	Spontaner Tod.
8	7 tägige Vorperiode, Gewicht 15,0 bis 16,9 g. Dann wie Nr. 5.	7	16,3	22,0	Vom 5. Tage +++	do.
16	6 tägige Vorperiode, Gew. 13,8 g am letzten Tage. Dann salzimprägn. Brot. Vom 18. Versuchstage ab 4 $^0/_0$ Kochsalz in Pulverform.	23	14,0	12,6	Vom 15 Tage +	Behufs Analyse getötet.
17	6 tägige Vorperiode, Gewicht am letzten Tage 17,4 g. Dann wie Nr. 16.	23	17,6	17,1	Vom 4. bis 20. Tage +, dann ++	do.
18	6 tägige Vorperiode, Gewicht 16,9 bis 17,3 g. Dann salzimprägniertes Kommißbrot bis zum 4. Versuchstag, darauf 4 $^0/_0$ NaCl in Pulverform, nach dem 15. Versuchstage Abbrechen, frisches Kommißbrot.	47	17,3	12,6	0	Spontaner Tod 30 Tage nach Aufhören der NaCl-Zufuhr.
21	23 tägige Vorperiode, Gew. 16,6 bis 17,5 g. Dann 4 $^0/_0$ NaCl in Pulverform.	2	17,5	15,3	0	Spontaner Tod.
22	6 tägige Vorperiode, Gewicht 15,8 bis 16,4 g. Salzimprägniertes Kommißbrot bis zum 6. Versuchstag, dann 4 $^0/_0$ NaCl in Pulverform.	8	16,2	11,5	0	do.
26	6 tägige Vorperiode, Gewicht 15,0 bis 15,7 g. 5 Tage imprägniertes Kommißbrot, dann 4 $^0/_0$ NaCl in Pulverform.	11	15,6	13,0	Vom 9. Tage +	do.
29	6 tägige Vorperiode, Gewicht 17,0 bis 17,8 g. Dann wie Nr. 21.	3	17,8	15,5	0	do.
30	7 tägige Vorperiode, Gewicht 19,0 bis 19,7 g. Dann wie Nr. 21.	2	19,1	15,6	0	do.
33	6 tägige Vorperiode, Gewicht 16,2 bis 18,7 g. Dann 4 $^0/_0$ NaCl in Pulverform, nach dem 2. Versuchstage wegen starken Gewichtsverlustes (18,2 bis 16,1 g) frisch. Kommißbrot, am 4. Tage 2 $^0/_0$ NaCl in Substanz.	14	18,2	17,6	Am 14. Tage ±	Zur Analyse getötet.
35	6 tägige Vorperiode, Gewicht 17,0 bis 17,8 g. Dann wie Nr. 21.	3	15,9	12,8	0	Spontaner Tod.
36	6 tägige Vorperiode, Gewicht 18,1 bis 18,6 g. 2 Tage 4 $^0/_0$ NaCl in Pulverform (Gew. 15,0 g!). Dann frisches Kommißbrot.	49	17,6	13,5	0	Spontaner Tod 47 Tage nach Aufhören der NaCl-Zufuhr.

Tabelle IIa (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer Tage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Ödeme	Ablauf
37	6 tägige Vorperiode, Gewicht 17,6 bis 18,3 g. Dann wie Nr. 33.	20	18,4	?	0	Spontaner Tod.
40	6 tägige Vorperiode, Gewicht 17,9 bis 18,4 g. Dann wie Nr. 33.	11	17,9	14,8	0	do.
41	6 tägige Vorperiode, Gewicht 17,3 bis 18,0 g. Dann wie Nr. 21.	2	16,5	14,2	0	do.
44	2 % NaCl in Pulverform.	11	25,4	?	0	do.
56	2 % NaCl in Pulverform, vom 6. Versuchstage imprägniertes Kommißbrot.	14	19,0	16,5	Vom 5. Tage +	Zur Analyse getötet.
57	Wie Nr. 56.	12	14,7	10,7	±	Spontaner Tod.
58	do.	15	16,9	17,3	Vom 6. Tage +	Analyse.
59	do.	12	16,0	11,7	±	Spontaner Tod.
60	do.	17	14,4	11,5	±	do.
61	do.	18	18,2	14,7	V. 6.–16. Tage +	do.
62	do.	22	15,9	11,4	0	do.
63	do.	27	14,4	14,2	Vom 20. Tage +	Analyse.
64	do.	24	15,7	16,5	Vom 20. Tage +	do.
65	do.	21	13,1	11,4	0	Spontaner Tod.
86	Salzimprägniertes Brot.	33	18,8	12,9	Vom 5. Tage +	do.
87	do.	18	16,7	16,9	Vom 6. Tage +	Analyse.
88	do.	22	14,2	11,2	0	Spontaner Tod.
89	do.	7	15,6	16,3	Vom 5. Tage +	Analyse.
104	do.	18	16,3	16,1	Vom 7. Tage +, vom 17. ++	do.
105	do.	10	14,6	11,1	0	Spontaner Tod.
106	do.	30	20,2	13,0	Vom 4. Tage +	do.
107	do.	22	21,5	14,6	Vom 7. Tage +	do.
108	do.	10	19,7	20,3	Vom 6. Tage +	Analyse.
109	do.	39	15,5	12,6	Vom 4. Tage +	do.
110	do.	21	16,7	9,8	Vom 4. Tage +	Spontaner Tod.
111	do.	39	17,7	14,5	Vom 4. Tage +	Analyse.
112	do.	39	18,5	14,8	Vom 11. Tage +	do.
113	do.	18	19,1	18,6	Vom 4. Tage +, vom 17. ++	do.

Auch über die Nahrungsaufnahme habe ich mich in einigen Versuchen orientiert.

Die Lebensdauer der Tiere war deutlich verkürzt. Gewöhnlich blieben sie bis zum letzten Lebenstage munter. Dabei nahm ihr Fell allmählich ein zerzaustes Aussehen an, wie man es auch bei alten Tieren beobachtet. Trotz der überreichlichen Nahrungsaufnahme (siehe besonders Maus 16, Tabelle IIb) hielten sie sich im Anfang kaum auf ihrem Gewicht oder nahmen sogar ab, ein Zeichen, daß die Ausnutzung der Nahrung nicht vollwertig war. Nur 4 von 30 Mäusen zeigten im Anfang eine

Tabelle IIb.

Tägliche Nahrungsaufnahme der Kochsalztiere.

Nr.	Periode	Dauer Tage	Nahrungsaufnahme pro Gramm Körpergewicht Brot g	 NaCl g	Calorien pro Gramm Körpergewicht
5	Vorperiode	7	0,40	—	1000
	I	10	0,50	0,022	1200
	II	7	0,24	0,006	700
16	I	5	0,88	0,036	2200
	II	11	0,49	0,009	1200
17	I	7	0,57	0,021	1300
	I	9	0,36	0,008	900

geringe Zunahme. Ob diese als organischer Ansatz oder als Wasserretention anzusehen ist, läßt sich natürlich nicht entscheiden. Mit dem Auftreten der Ödeme setzten in der Regel erhebliche Schwankungen des Körpergewichts ein, wie sie Fig. 2 typisch zeigt. Dabei hielt sich das Gewicht bis zuletzt

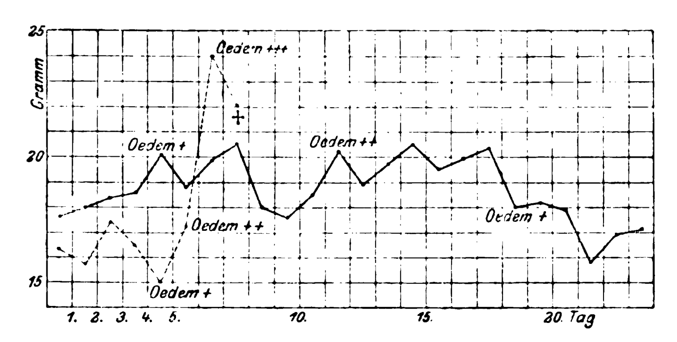


Fig. 2.
—— Maus 17. Typus der Salztiere.
------ Maus 8. Hochgradiges Ödem.

gut. Der starke Gewichtssturz, der in Tabelle IIa in vielen Versuchen zum Ausdruck kommt, erfolgte im allgemeinen in den 4 letzten Lebenstagen zu einer Zeit, wo die Tiere nur noch wenig fraßen oder die Nahrung verweigerten. Soweit die grobe Schätzung ein Urteil zuläßt, waren sowohl Wasseraufnahme als auch Diurese gesteigert. Die Wassergefäße waren oft schon nach $^1/_2$ Tage leer, während sie bei den Kontroll-

tieren nur zum kleinsten Teile ausgesoffen wurden, und die Käfige mußten infolge der Durchnässung der Torfstreu häufiger gewechselt werden als in der Norm. Auch die Defäkationen waren feuchter und schienen reichlicher zu sein als gewöhnlich. Durchfall wurde sehr selten und nur vorübergehend beobachtet. Bei der Sektion war die Gewebsflüssigkeit in einigen ausgesprochenen Fällen deutlich vermehrt. Einmal war Ascites vorhanden.

Nicht in allen Fällen trat Ödem auf; von 30 in Betracht kommenden Mäusen wurde es bei 22 beobachtet. Gewöhnlich ließ es sich gar nicht voraussagen, ob und zu welchem Zeitpunkte Ödem eintrat. Hier scheinen dieselben individuellen Verschiedenheiten im Spiele zu sein, die man auch bei Säuglingen beobachtet hat[1]), und die bisher der Erklärung nicht zugänglich sind. In der Mehrzahl der Fälle wurde das Ödem am 4. bis 7. Tage deutlich sichtbar (16 mal), bei einigen erschien es später, bei 2 Tieren erst nach dem 20. Tage. Hochgradiges Ödem wurde nur einmal beobachtet (Fig. 2, punktiert gezeichnet). Bei den übrigen blieb es immer in mäßigen Grenzen.

Bemerkenswert ist das ungleiche Verhalten der Mäuse bei Fütterung mit trockenem, gemahlenem Kommißbrot, dem Kochsalz in Substanz zugesetzt war. Da frisches Kommißbrot annähernd 40% Wasser enthält, wurde zunächst mit einem Zusatz von 4% NaCl begonnen. Von den 9 Versuchstieren, die sich in einer 7tägigen Vorperiode bei frischem Kommißbrot gut gehalten hatten, gingen 5 in 2 bis 3 Tagen ein, ohne Ödem zu bekommen. Die übrigen 4 verloren in 2 Tagen durchschnittlich 15% an Gewicht, so daß vorgezogen wurde, von der weiteren Fütterung Abstand zu nehmen.

Dann wurde eine Mischung versucht, die nur 2% NaCl enthielt. Dabei blieben die Tiere allerdings länger am Leben, aber ihr Gewicht fiel stetig ab, ohne daß es zu den typischen Schwankungen und Ödemen kam. Nach 6 Tagen wurde deshalb bei 6 von 9 Tieren auch mit dieser Art der Salzzufuhr aufgehört. Die Ursache des schädlichen Einflusses des pulverförmigen Kochsalzes darf in einer direkten lokalen Wirkung auf die Darmschleimhaut vermutet werden.

Die Darreichung anderer Natriumsalze führte zu ähnlichen Ergebnissen. Es wurden dabei Lösungen verwandt, die in ihrem Na-Gehalt der 5%igen NaCl-Lösung entsprachen. Beim Verfüttern von **Natriumphosphat** (9 Mäuse; zum Tränken des Brotes diente eine 10%ige Lösung des krystallwasserhaltigen

---

[1]) Krasnogorski, l. c.

Salzes [$Na_2HPO_4 + 12 H_2O$]) trat bei 2 Tieren am 3. Tage, bei 4 anderen erst später Ödem auf. Bei 2 Mäusen wurde es vermißt. 2 Tiere, die in den ersten 20 Tagen einen viel geringeren Phosphatzusatz erhalten hatten, hielten sich später bei dem salzreicheren Futter besser als die übrigen. Ob das lediglich einer durch die zuerst gereichten kleinen Dosen erzielten Gewöhnung zuzuschreiben ist oder ob die beiden Tiere zufällig nur eine größere Widerstandsfähigkeit besaßen, läßt sich nicht sagen, zumal sie aus einem anderen Stamm waren als die übrigen Phosphattiere.

Tabelle III.

Natriumphosphatfütterungen.

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer	Anfangs-	End-	Ödeme	Ablauf
			gewicht			
		Tage	g	g		
74	2,5 % imprägn. Brot 20 Tage lang, dann 10 % imprägniert.	55	19,5	17,8	0	Zwecks Analyse getötet.
75	do.	55	17,4	16,7	Vom 35. Tage +	do.
94	5 % imprägniert. Brot 7 Tage lang, dann 10 % imprägniert.	19	19,4	16,8	" 13. " +	Spontan. Tod.
95	5 % imprägniert. Brot.	12	14,2	11,1	0	do.
123	10 % imprägniert. Brot.	29	14,3	11,2	Vom 17. Tage +	Analyse.
124	do.	3	16,8	15,8	Am 3. Tage +++	do.
125	do.	21	14,3	10,2	±	Spontan. Tod.
126	do.	21	17,9	13,3	Vom 4. Tage +	do.
127	do.	22	16,4	11,5	" 3. " +	do.

Von den 6 mit **Natriumlactat**[1]) gefütterten Mäusen bekam nur 1 Tier ausgesprochenes Ödem. Die Gewichtsabnahme von rund 25 % verteilt sich hier im Gegensatz zu den Kochsalz- und Phosphattieren ziemlich gleichmäßig auf die ganze Versuchszeit.

Die in Tabelle V wiedergegebenen Versuche mit **Natriumsulfat** nehmen insofern eine Ausnahmestellung ein, als das Natriumsulfat nicht wie die bisher besprochenen Salze ein Bestandteil der Nahrung ist, und auch von vornherein wegen seiner starken abführenden und diuretischen Wirkung zu er-

[1]) Die zum Imprägnieren verwandte 10 %ige Lösung von $NaC_3H_5O_3$ wurde durch Neutralisieren einer Milchsäurelösung von bekanntem Titer mit Natronlauge hergestellt.

Tabelle IV.

Natriumlaotatfütterungen.

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer	Anfangs-	End-	Ödeme	Ablauf
			gewicht			
		Tage	g	g		
133	10 % imprägniert. Brot	20	14,5	12,5	0	Analyse.
134	do.	20	18,2	17,0	Vom 17. Tage +	do.
135	do.	8	14,5	9,7	0	Spontan. Tod.
136	do.	18	13,8	10,6	0	do.
137	do.	17	11,8	9,1	0	do.
138	do.	5	16,2	12,8	0	do.

warten war, daß es nur zum geringen Teile im Körper retiniert würde. Trotzdem gelang es, bei Verwendung einer 10 %igen Lösung 3 mal deutliches Ödem zu erzeugen. Es wurde öfters als in anderen Reihen Durchfall beobachtet, dessen Auftreten aber nicht zur Regel gehörte. Die Gewichtsabnahme von rund 30 % verteilte sich auch hier ziemlich gleichmäßig auf die ganze Versuchszeit. Auffallend war das Verhalten vor dem Tod. Schon 6 und 4 Tage vor dem Exitus wurde mehrmals eine Veränderung im Wesen der Tiere bemerkt: Sie saßen

Tabelle V.

Natriumsulfatfütterungen.

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer	Anfangs-	End-	Ödeme	Ablauf
			gewicht			
		Tage	g	g		
76	2,5 % imprägn. Brot 22 Tage lang, dann 10 % imprägniert.	30	15,3	11,3	0	Spontan. Tod.
77	2,5 % imprägn. Brot.	15	17,8	12,3	0	do.
114	2,5 % imprägn. Brot 7 Tage lang, dann 10 % imprägniert.	16	18,0	12,9	0	do.
128	10 % imprägniert. Brot.	16	15,2	10,0	±	do.
129	do.	21	17,3	11,1	Vom 9. Tage +	do.
130	do.	20	17,6	12,0	Vom 9. Tage +, vom 17. „ ++	do.
131	do.	24	20,0	13,5	Vom 9. Tage +	do.
132	do.	6	15,7	11,8	0	do.
155	do.	14	16,3	11,7	±	do.
156	do.	10	17,0	12,0	0	do
157	do.	10	15,4	10,9	0	do.
158	do.	8	16,3	12,7	0	do.

apathisch und in sich zusammengekauert in ihrem Käfig und bewegten sich nur langsam und mühsam. Die Nahrungsaufnahme schien dabei nicht wesentlich beeinträchtigt, auch nahmen sie während dieser Zeit gewöhnlich nicht mehr wesentlich an Gewicht ab.

III. Versuche mit Rohrzuckerzusatz.

Nächst den Salzversuchen interessierte am meisten eine übermäßige Kohlenhydratzufuhr. Die vorliegende Literatur[1]), besonders von pädiatrischer Seite, ließ auch hier Unregelmäßigkeiten im Wasserhaushalte und Wasserretentionen vermuten. Die Fütterungen wurden mit einem Kommißbrot vorgenommen, das mit 50%iger Rohrzuckerlösung getränkt war, wobei es etwa 20% Zucker aufnahm. Dadurch wurde das Verhältnis von Kohlenhydraten zu Eiweiß, das im frischen Kommisbrot 8,5 : 1 ausmacht, so verschoben, daß es **11,5 : 1** betrug.

Nachstehend eine Übersicht über die einschlägigen Versuche:

Tabelle VIa.
Rohrzuckerfütterungen.

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer	Anfangs-	End-	Ablauf
			gewicht		
		Tage	g	g	
3	6tägige Vorperiode, Gew. 22,5 bis 23,6. Dann imprägn. Kommißbrot.	13	23,6	19,1	Spontaner Tod.
6	6tägige Vorperiode, Gew. 17,2 bis 19,2. Dann imprägn. Kommißbrot.	15	19,2	13,1	do.
10	Imprägn. Kommißbrot. Vom 19. Versuchstage 40% Rohrzucker in Pulverform.	27	17,1	17,4	Zwecks Analyse getötet.
15	6tägige Vorperiode, Gew. 16,1 bis 17,6. Dann imprägn. Brot, vom 7. Versuchstage 40% Rohrzucker in Pulverform.	12	17,6	15,2	Spontaner Tod.
23	6tägige Vorperiode, Gew. 16,1 bis 17,5. Dann imprägn. Brot.	5	17,5	13,9	do.

[1]) Weigert und Steinitz, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 6, 206, 1905. — R. Weigert, Jahrb. f. Kinderheilk. 61, 256, 1905. — Frank und Stolte, ebenda 78, 167, 1913. — E. Grafe, Arch. f. klin. Med. 113, 1, 1914.

Tabelle VIa (Fortsetzung).

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer Tage	Anfangs- gewicht g	End- gewicht g	Ablauf
24	6tägige Vorperiode, Gew. 18,5 bis 20,4. Dann imprägn. Brot, vom 6. Tage 40 % Rohrzucker in Pulverform.	18	20,5	13,4	Spontaner Tod.
25	Wie Nr. 24. Am 17. Tage (Gew. 12,0!) auf frisches Kommißbrot abgesetzt.	55	18,8	14,7	Spontaner Tod 38 Tage nach Aufhören der Rohrzuckerszufuhr.
68	Imprägn. Kommißbrot.	31	18,9	13,0	Spontaner Tod.
69	do.	26	17,5	12,8	do.
71	do.	9	17,4	18,0	Analyse.
72	do.	15	14,8	14,7	do.
73	do.	9	13,6	13,8	do.
81	do.	16	17,5	11,5	Spontaner Tod.
82	do.	19	16,8	17,3	Analyse.
83	do.	5	16,4	13,6	Spontaner Tod.
84	do.	18	15,3	12,4	do.
85	do.	25	16,2	12,7	do.
101	do.	24	19,8	16,7	do.
103	do.	6	15,6	15,4	Analyse.
163	do.	5	14,3	12,1	Spontaner Tod.
164	do.	6	15,7	13,0	do.
165	do.	6	16,6	14,5	Analyse.
173	do.	6	16,0	15,7	do.
177	do.	6	16,0	15,2	do.
178	do.	6	13,6	14,8	do.

Über die Größe der Nahrungsaufnahme gibt Tabelle Vb Aufschluß:

Tabelle VIb.

Tägliche Nahrungsaufnahme der Zuckertiere.

Nr.	Periode	Dauer	Nahrungsaufnahme pro Gramm Körpergewicht		Calorien	
		Tage	Brot g	Zucker g	pro Gramm Körpergewicht	Davon auf Kohlenhydrate
3	Vorperiode	6	0,36	—	900	800
	I	2	0,44	0,11	1500	1350
	II	10	0,26	0,09	1000	900
6	I	8	0,35	0,11	1300	1150
	II	6	0,15	0,05	600	510
10	I	13	0,36	0,10	1300	1150
		6	0,27	0,04	800	720

Die Tiere fraßen in den ersten Tagen reichlich, so daß sie sich auf ihrem Gewicht hielten oder sogar etwas zunahmen. Mit dem Zeitpunkte, zu dem die Freßlust abnahm, setzte meist auch ein stetiger und erheblicher Gewichtssturz ein, der zum Tode führte (Fig. 3). Von 23 Tieren starben 14 spontan bei einem Gewichtsverlust von durchschnittlich 20%. An dem Verhalten der Tiere wurde nichts besonderes bemerkt. Ödem trat niemals auf. Ebenso war niemals Durchfall vorhanden. Bei der Sektion waren keine makroskopischen Veränderungen an den inneren Organen festzustellen.

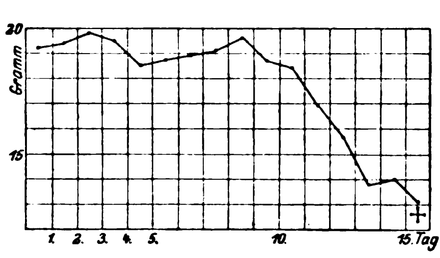


Fig. 3. Maus 6. Typus der Rohrzuckertiere.

IV. Versuche mit Fettzusatz.

Gegenüber einer fettreichen Nahrung zeigten die Mäuse eine Art der Reaktion, die anfänglich der Deutung einige Schwierigkeiten machte.

Nach den Erfahrungen, die bei anderer Gelegenheit am Institute gemacht worden sind[1]), schien es nicht angängig, das Kommißbrot mit einer ätherischen oder ähnlichen Fettlösung zu tränken, da selbst bei gründlichstem Trocknen Spuren des Lösungsmittels haften bleiben, die auf den Geschmack einen derartig nachteiligen Einfluß haben, daß die Tiere das Futter verschmähen. Daher wurde zunächst das Brot nur mit geschmolzenem Palmin getränkt. Es nahm durchschnittlich 20% davon auf. Als es später wünschenswert schien, den Einfluß eines geringeren Fettgehaltes der Nahrung kennen zu lernen, wurde dazu übergegangen, aus grobem Roggenmehl (Roggengraham) ein Brot zu backen, das 10% Palmin enthielt. Weil nun aber von vornherein nicht klar war, ob das fein verteilte verbackene Fett vielleicht besser ausgenutzt würde als das grob imprägnierte, wurden gleichzeitig einige Fütterungen mit einem Roggenbrot vorgenommen, in das 20% Palmin verbacken war. Es ergab sich kein wesentlicher Unterschied in der Wirkung zwischen beiden Zubereitungen.

Tabelle VIIa gibt die hierhergehörigen Versuche wieder:

[1]) W. Stepp, l. c. — Oseki, l. c.

Tabelle VIIa.

Palminfütterungen.

Vers.-Nr.	Art der Ernährung	Dauer	Anfangs-	End-	Ablauf
			gewicht		
		Tage	g	g	
4	6tägige Vorperiode, Gew. 23,0 bis 25,8 g. Dann palmin-imprägn. Kommißbrot.	18	25,8	16,0	Spontaner Tod.
7	6tägige Vorperiode, Gew. 14,3 bis 14,9 g. Dann palmin-imprägn. Kommißbrot, vom 18. Versuchstage getrocknetes Kommißbrot + 40 % Palmin.	29	14,9	9,5	do.
11	Palminimprägn. Kommißbrot	13	16,4	11,8	do.
13	do.	5	18,9	14,8	do.
20	6tägige Vorperiode, Gew. 18,3 bis 19,3 g. Dann imprägn. Kommißbrot.	7	19,3	12,5	do.
31	Trockenes, zermahlenes Kommißbrot mit 20 % Palmin.	14	16,3	11,6	do.
115	Imprägn. Kommißbrot.	13	28,2	23,8	Zwecks Analyse getötet.
116	do.	13	28,3	21,1	do.
121	do.	7	17,8	12,5	Spontaner Tod.
122	do.	8	17,7	11,8	do.
151	Selbstgebackenes Roggenbrot mit 20 % Palmin.	9	17,2	12,7	do.
152	do.	13	17,0	11,9	do.
153	do.	7	16,0	10,8	do.
154	do.	10	16,1	11,6	do.

Die Krankheitserscheinungen waren in Kürze die folgenden: Die Tiere verloren von Anfang an stark an Gewicht und stellten sich nach einiger Zeit auf ein gewisses Minimum ein, das etwa zwei Drittel ihres ursprünglichen Körpergewichtes betrug (Fig. 4). Vom 2. bis 4. Tage an wurde ihr Fell borstig,

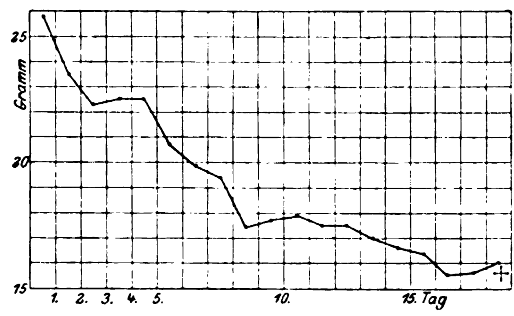


Fig. 4. Maus 4. Typus der Palmintiere.

und zwar so, daß sich die Haare am ganzen Körper mit großer Regelmäßigkeit senkrecht zur Körperoberfläche stellten. Diese merkwürdige Beteiligung der Haut wurde bei keinem Fettier vermißt und sonst nirgends beobachtet. Die Mäuse saßen in der Regel träge in ihrem Käfig. Der Tod erfolgte durchschnittlich in 12 Tagen unter den Zeichen extremer Abmagerung. Bei der Sektion schien das Unterhautfettgewebe reduziert, die inneren Organe machten einen trockenen Eindruck; Veränderungen waren makroskopisch nirgends erkennbar. Der Magendarmkanal war gewöhnlich reichlich mit Speisebrei gefüllt, ein Zeichen, daß die Tiere bis zuletzt gefressen hatten, die Faeces fest und ohne sichtbare Veränderungen. Einmal trat kurz vor dem Tode Durchfall ein.

Tabelle VIIb.

Tägliche Nahrungsaufnahme der Palmintiere.

Nr.	Periode	Dauer	Nahrungsaufnahme pro Gramm Körpergewicht		Calorien	
		Tage	Brot g	Palmin g	pro Gramm Körpergewicht	Davon auf Fett
4	Vorperiode	3	0,36	—	900	—
	I	8	0,16	0,04	800	400
	II	8	0,20	0,07	1050	650
	III	2	0,12	0,04	650	400
7	I	6	0,16	0,04	800	400
	II	8	0,21	0,06	1150	550
	III	4	0,18	0,03	700	350[1]
11	I	4	0,17	0,04	800	400
	II	5	0,19	0,07	1150	650
	III	4	0,16	0,02	600	200

Die Nahrungsaufnahme (Tabelle VIIb) stand an Gewicht hinter der der Normaltiere zurück, indessen kam sie in ihrem energetischen Werte derselben etwa gleich. Nur bedingte der übermäßige Fettgehalt von 20% eine außerordentliche Verschiebung der einzelnen Nahrungskomponenten gegeneinander, und zwar so, daß das Fett, das beim Verfüttern von Brot ganz zurücktritt, auf Kosten von Eiweiß und Kohlenhydraten etwa die Hälfte der zugeführten Calorien deckte.

[1]) Konstanter, langsamer Abfall der Gewichtskurve, Lebensdauer 29 Tage.

Die merkwürdige Gewichtskurve (s. Fig. 4) ließ nun von Anfang an vermuten, daß es sich um eine partielle Inanition handelte. Diese Mutmaßung machte eine Anzahl von Kontrollversuchen nötig. In der Tat erhielten wir bei 8 Tieren durch Fütterung mit ungenügender Menge Kommißbrot (500 bis 650 cal pro Gramm Körpergewicht) ohne Zusatz in 8 bis 14 Tagen die gleichen zum Tode führenden Gewichtsstürze. (Vgl. dazu die punktierte Kurve in Fig. 1 mit Fig. 4.)

Tabelle VIII.

Fütterungen mit ungenügenden Mengen Kommißbrot.

Versuchs-Nr.	Art der Fütterung	Dauer	Anfangs- gewicht	End- gewicht	Ablauf
		Tage	g	g	
39	6 tägige Vorperiode. Gew. 17,0 bis 18,6 g. Dann tägl. 4 g Kommißbrot.	14	18,6	13,2	Spontaner Tod.
42	6 tägige Vorperiode. Gew. 20,7 bis 22,1 g. Dann tägl. 4 g Kommißbrot.	14	22,1	16,0	do.
96	Tägl. 4 bis 5 g Kommißbrot.	5	26,0	18,4	do.
97	do.	5	20,7	15,7	do.
98	do.	9	16,7	11,6	Zur Analyse getötet.
99	do.	9	18,7	13,4	do.
118	do.	9	28,2	19,5	do.
119	do.	9	29,0	19,4	do.

Sodann handelte es sich darum, festzustellen, ob die zugeführte Nahrung vom Darm aus ebensogut resorbiert würde wie bei den Kontrolltieren. Wir hielten deshalb eine Maus dieser Serie einige Tage auf einem Drahtnetz und isolierten mit einiger Mühe genügende Kotmengen, die mit Äther extrahiert wurden. Es fanden sich in 0,33 g Trockenkot 0,041 g = 12,5 %, demgegenüber in 0,62 g Trockenkot eines Kontrolltieres 0,028 g = 4,5 % ätherlösliche Substanz. Die angewandte Versuchsordnung ermöglichte leider nicht die Bestimmung der absoluten Größe der täglichen Ausscheidungen, da die Tiere das Futter auf das Drahtnetz zerrten und mit den Faeces so vermengten, daß nur ein Teil von diesen zur Analyse verwandt werden konnte. Da aber nur die Größe der Ausscheidung in ihrem Verhältnis zu der der Einnahmen einen Schluß auf die Resorptionsverhältnisse gestattet, suchten wir uns so zu helfen, daß wir zwei mit Kommißbrot gefütterte Mäuse täglich für

1 Stunde ohne jede Nahrung in ein leeres Glasgefäß setzten und die produzierten Faeces nach der Trocknung wogen. Die so aus 8 Versuchen für die 24 stündige Ausscheidung berechnete Mittelzahl von 0,384 g Trockenkot gibt natürlich nur ein ganz grobes Bild, nach unserer Überzeugung ist sie eher zu hoch als zu niedrig. Mit ihrer Hilfe kann man sich trotzdem klarmachen, daß die Resorption der fettreichen Nahrung nicht erheblich beeinträchtigt sein kann. Vorausgesetzt, daß die Menge der Faeces bei Fettfütterung nicht vermehrt ist — man hatte eher den gegenteiligen Eindruck —, so sollte täglich von der Fettmaus 0,048 g, von dem Kontrolltier 0,017 g ätherlösliche Substanz ausgeschieden werden. Die Differenz spielt gegenüber der Einnahme von etwa 1 g Fett keine wesentliche Rolle.

Weiter kam in Frage, ob die Inanition durch den Mangel an Eiweiß bedingt sei. Denn die verzehrte Brotmenge entspricht etwa der Hälfte der normalen, infolgedessen ist die Eiweißzufuhr ebenfalls auf die Hälfte herabgedrückt. Es mußte demnach gelingen, durch Eiweißzusatz die allzu fettreiche Nahrung zu ergänzen.

Zu dieser Versuchsreihe wurde, nachdem der Versuch mißlungen war, Kommißbrot mit einer Emulsion von Olivenöl und Hühnereiweiß zu tränken, ein Roggenbrot verwandt, das neben 20% Palmin 10% Aleuronat enthielt. Wie aus Tabelle IX zu ersehen ist, konnten 8 Mäuse über 28 resp. 33 Tage am Leben erhalten werden, ohne an Gewicht zu verlieren; im Gegenteil,

Tabelle IX.

Palmin-Aleuronatfütterungen.

Versuchs-Nr.	Art der Nahrung	Dauer Tage	Anfangsgewicht g	Endgewicht g	Ablauf
159	Roggenbrot mit 20% Palmin und 10% Aleuronat.	27	15,6	15,3	Beim Abbrechen der Versuche völliges Wohlbefinden.
160	do.	27	13,2	15,8	do.
162	do.	27	13,2	15,5	do.
139	do.	28	14,4	17,3	do.
141	do.	33	17,1	16,6	do.
142	do.	33	15,9	16,9	do.
143	do.	33	17,6	17,4	do.
144	do.	33	18,7	23,0	do.

5 Tiere nahmen bis zu 4 g zu. Aus äußeren Gründen konnten die Fütterungen nicht länger durchgeführt werden, indessen ist der Unterschied gegenüber den mit Palmin ohne Eiweiß gefütterten Tieren so deutlich, daß es keinem Zweifel unterliegt, daß der Aleuronatzusatz auf das Gedeihen der Tiere einen auffallend günstigen Einfluß hatte. Bei allen 8 Tieren wurde während 5 Tagen die Nahrungsaufnahme bestimmt. Sie betrug 0,35 g pro Gramm Körpergewicht, das würde 1600 cal entsprechen, also sehr reichlich sein. Bemerkenswerterweise traten auch bei diesen Aleuronattieren dieselben Veränderungen am Fell auf wie bei den Palmintieren. Jedoch gewannen die Haare bis zur 3. Woche bei 6 Tieren die normale Beschaffenheit wieder, und bei denen, die borstig blieben, hatte man beim Abbrechen der Versuche den Eindruck einer deutlichen Besserung.

Kurz erwähnt seien noch einige Versuche mit einem 10 % Palmin enthaltendem Roggenbrot (Tabelle X).

Tabelle X.
Fütterungen mit geringerem Palminzusatz.

Versuchs-Nr.	Art der Nahrung	Dauer	Anfangs- gewicht	End- gewicht	Ablauf
		Tage	g	g	
145	10 % Palmin haltiges selbstgebackenes Roggenbrot.	11	15,9	11,3	Spontaner Tod.
147	do.	19	15,2	12,8	do.
149	do.	33	16,3	11,9	do.
150	do.	9	15,2	10,7	do.
146	do.	33	16,6	13,9	Beim Abbrechen des Versuchs starke Abmagerung, borstiges Fell.

Die Tiere gingen unter denselben Erscheinungen zugrunde wie diejenigen, die reichlicher Palmin erhielten, nur daß der Gewichtsabfall langsamer erfolgte und der Tod später eintrat.

Schlußfolgerungen.

Wie aus den vorstehenden Versuchsreihen hervorgeht, wird eine an sich qualitativ und quantitativ zureichende Nahrung durch eine erhebliche Vermehrung der nichteiweißartigen Bestandteile — der Kohlenhydrate, der Fette und der Salze —

für die Erhaltung des Lebens ungeeignet. Dabei besteht zwischen dem Einfluß der organischen Nährstoffe und dem der Salze ein deutlicher Unterschied.

Wenn Tiere sich mit einem Futter, das genügende Mengen Eiweiß, daneben aber einen Überschuß an Kohlenhydraten enthält, nicht zu ernähren vermögen, so kann das durch verschiedene Momente bedingt sein:

1. Durch einen Widerwillen der Tiere gegen eine so ausgesprochen einseitig schmeckende Nahrung, oder

2. durch die Unfähigkeit des Darmtraktus, sie auszunutzen und zu resorbieren, oder aber

3. durch eine Einrichtung des intermediären Stoffwechsels, welche die Ausnützung bestimmter Nährstoffe, z. B. Kohlenhydrate, von der Mitwirkung anderer, z. B. des Eiweißes, abhängig macht. Möglicherweise ist überdies auch der „Widerwillen" nur ein Ausdruck für das Bestehen einer solchen Einrichtung.

Eine Entscheidung darüber, welches dieser Momente für die ungünstige Wirkung einer einseitigen Ernährung das maßgebende ist, kann zurzeit nicht getroffen werden.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei übermäßiger Salzzufuhr insofern, als hier die Beeinflussung des osmotischen Druckes in den Vordergrund tritt und zu einer abnormen Wasserverteilung mit Auftreten von Ödemen führt. Hiervon soll in der nächsten Mitteilung ausführlicher die Rede sein.

Über eine manometrische Methode der Harnstoffbestimmung.

Von

Walther Löb und Artur Prorok.

(Aus der chemischen Abteilung des Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 3. Juni 1914.)

Mit 3 Figuren im Text.

Das Bedürfnis, für klinische Zwecke Methoden zu haben, die ohne die höchsten Anforderungen an Genauigkeit zu erfüllen, diagnostische Verwertbarkeit mit Schnelligkeit und Bequemlichkeit der Ausführung vereinen, hat speziell für die Harnstoffanalyse zu immer erneuten Vorschlägen geführt.

Bei der steigenden Bedeutung, die die Ermittlung des Bluthamstoffs beansprucht, ist besonders in der letzten Zeit vielfach der Versuch gemacht worden, die bekannte Zersetzung des Harnstoffs durch Hypobromit, die der analytischen Verwertung durch eine ganze Reihe von Fehlerquellen Schwierigkeiten bietet, in eine brauchbare Form zu bringen. Ihr großer Vorzug, bei geringen Harnstoffmengen das Endresultat in einem leicht meßbaren Gasvolumen zu liefern, macht ohne weiteres die Versuche verständlich, sie neben den auf Ammoniakabspaltung beruhenden Methoden dem klinischen Laboratorium zu erhalten und ihre Fehlerquellen möglichst auszuschließen. Diese Fehlerquellen bestehen darin, daß einerseits die Reaktion innerhalb der in Frage kommenden Zeiten nicht vollständig verläuft und andererseits außer dem Harnstoff noch andere Harn- und Blutbestandteile mit Natriumhypobromit Stickstoff liefern können. Außerdem liegt bei den älteren Ureometern noch eine erhebliche Fehlerquelle in den Dimensionen des Apparates, die eine gleichmäßige Temperatur fast unmöglich machen, zumal wenn man bedenkt, daß die Zersetzung des Harnstoffs unter

ganz beträchtlicher Wärmeentwicklung verläuft. Hinzu kommt die Unbequemlichkeit, die zur Reaktion zu bringenden Flüssigkeiten durch Neigen und Schütteln der Gefäße zu vereinigen, wobei die dem relativ großen Schüttelgefäß sich mitteilende Handwärme einen die Analyse beeinträchtigenden Einfluß auf die in dem Gefäß befindliche Gasmenge ausübt.

Zweckmäßige Vorschläge zur Vermeidung dieser Übelstände sind in der letzten Zeit mehrfach veröffentlicht worden, so u. a. von Jolles[1]), von Grimbert und Laudat[2]), von Guillaumin[3]), von Tsakalos[4]), Heyninx[5]), Krogh[6]) u. a. Die Mitteilungen der drei letztgenannten, von denen die von Tsakalos erst nach Beendigung unserer Versuche erschienen ist, stehen mit den folgenden Angaben in gewisser Beziehung, indem Heyninx, wie wir, die Volummessung durch eine Druckmessung ersetzt, während Tsakalos an Stelle der bisherigen unbequemen Art, die Flüssigkeiten durch Umwerfen eines inneren Gefäßes in einem weiteren zu mischen, das Hinzufließenlassen der einen Lösung zur anderen vorschlägt und einen Apparat zum Einstellen in ein Wasserbad zwecks Erzielung konstanter Versuchs- und Ablesetemperaturen einrichtet. Trotzdem aber ist unsere Anordnung eine wesentlich andere. Tsakalos benutzt, wie die früheren Autoren die Volummessung, Heyninx hat die schwierige Mischeinrichtung und eine dem Apparat eigene Graduierung für Harnstoffwerte, eine Anordnung, die sich uns nicht als zweckmäßig erwiesen hat. Ferner ist der Apparat von Heyninx nur für sehr kleine Harnstoffmengen brauchbar, während unsere Anordnung sich mit Leichtigkeit für verschiedene Empfindlichkeiten einstellen läßt. Die Brauchbarkeit der genannten Apparate soll aber ebensowenig in Abrede gestellt werden, wie die der Methode von Marshall[7]), die auf der den Harnstoff unter Abspaltung von Ammoniak zersetzenden Wirkung des Sojabohnenextraktes beruht.

---

[1]) Pharm. Post **46**, 850, 1913; Österr. Chem. Zeitg. **16**, 293, 1913.
[2]) Journ. Pharm. et Chim. (7) **7**, 569, 1913.
[3]) Ibidem (7) **8**, 64, 1913.
[4]) Ibidem (7) **9**, 287, 1914.
[5]) Diese Zeitschr. **51**, 355, 1913.
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **84**, 379, 1913.
[7]) Journ. of Biol. Chem. **15**, 487, 1913.

Krogh diskutiert in besonders sorgfältiger Weise die verschiedenen Fehlerquellen der Methode unter Berücksichtigung der von Yvon, Esbach, Moreigne u. a. gemachten Vorschläge und gibt besonders wertvolle Daten über den Einfluß der Konzentrationsverhältnisse der Bromlauge für den Verlauf der Harnstoffzersetzung und über das Verhalten von Ammoniaksalzen gegenüber Natriumhypobromit. Auch hat Krogh in richtiger Erkenntnis der Wichtigkeit der Temperaturkonstanz für die Verwertbarkeit der Methode eine Anordnung getroffen, die diesem Faktor Rechnung trägt. Jedoch dürfte die Einstellung zweier Wasserbehälter auf genau gleiche Temperatur — der eine dient der Reaktion, der andere der Volummessung — als nicht geringe Unbequemlichkeit empfunden werden. Auch wird die Feststellung des absoluten Stickstoffwertes, selbst unter Benutzung eines Korrekturfaktors, bei dieser Methode immer mehr oder weniger unsichere Resultate geben.

Die folgende Mitteilung ist eine vorläufige und beabsichtigt, nur das Prinzip und die Anwendungsweise des Apparates klarzulegen. Die weitere Verwendbarkeit des Apparates soll später an Hand klinischer Untersuchungen auseinandergesetzt werden.

Vor einer Reihe von Jahren hat der eine von uns[1]) (Löb) zur Katalasenbestimmung im Blute einen Apparat angegeben, der auf der Messung des Druckes des aus Wasserstoffperoxyd entwickelten Sauerstoffs beruht. Die Genauigkeit und Empfindlichkeit dieses Meßinstruments bestimmten uns zu dem Versuch, das gleiche Prinzip für die Harnstoffanalyse zu verwerten. Der Apparat mußte, um die Vorzüge der Druckmessung ausnutzen zu können, bestimmten Anforderungen genügen. Er mußte so konstruiert werden, daß er zur Erzielung eines Temperaturgleichgewichtes vollständig in Wasser getaucht werden kann. Ferner mußte eine Einrichtung getroffen werden, die gestattet, die Bromlauge und die Harnstofflösung vor ihrer Vereinigung auf genau gleiche Temperatur, die auch die der Ablesung nach beendetem Versuch sein muß, zu halten. Eine große Empfindlichkeit verlangt der Zweck, hauptsächlich den Harnstoffgehalt in kleinen Blutmengen zu ermitteln. Schließlich geht aus den Eigenschaften der chemischen Umsetzung, die der Methode

[1]) Diese Zeitschr. 13, 339, 475, 1908.

zugrunde liegt, hervor, daß nur eine empirische Eichung, die sich bequem gestaltet, in Frage kommen konnte.

Aus diesen Forderungen entstand der abgebildete, ganz aus Glas gefertigte Apparat (Fig. 1). Das untere Gefäß mit einem Fassungsraum von 50 ccm trägt auf weiter Öffnung einen sorgfältig aufgeschliffenen Helm, der, gut eingefettet, durch starke Gummiringe gesichert wird. An dem Glashelm befindet sich in geeigneter Gewichtsverteilung das Reservoir für die zu analysierende Harnstofflösung, ein oben und unten durch Glashähne verschließbarer, ca. 30 ccm fassender, bis 20 ccm in $^1/_{10}$ ccm genau auf dem Glase geeichter Zuflußcylinder, dessen Ausflußöffnung durch ein gebogenes Glasrohr in das Innere des Glashelms reicht und mit dem unteren Rand des letzteren in einer Höhe steht, ferner das senkrechte Kommunikationsrohr und das mit Glasskala (mm) versehene Manometer.

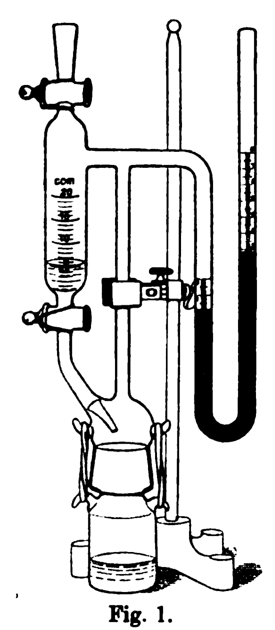


Fig. 1.

Das senkrechte Kommunikationsrohr, das auf der Mitte des Glashelms aufgeschmolzen ist, dient einerseits der Verbindung des unteren Gefäßes mit dem Manometer, andererseits der Verbindung mit dem Harnstoffzylinder und bewirkt, daß die Lösung aus dem Zylinder in das untere Gefäß fließen kann, ohne daß — vorausgesetzt, daß keine Reaktion oder Temperaturänderung stattfindet — irgendeine Druckschwankung im Apparat eintritt. Die herabfließende Lösung verdrängt nur eine bestimmte Menge Luft aus dem unteren Gefäß, die nun im Zylinder den Raum der ausgeflossenen Lösung einnimmt. Bei einer mit Gasentwicklung verbundenen Reaktion gibt daher das Manometer nur den von ihr bewirkten Druck an.

Bei den ersten Versuchen, die der Harnstoffbestimmung im Urin galten, bedienten wir uns zur Füllung des Manometers des Quecksilbers. Als es sich um die geringen Harnstoffmengen des Blutes handelte, ersetzten wir das Quecksilber durch mit etwas Kongo gefärbtes Wasser, wodurch die Empfindlichkeit um rund das 13fache gesteigert wird.

Die Ausführung der Messung gestaltet sich folgendermaßen: Man bringt in das untere Gefäß 15 ccm Bromlauge, in den Zylinder 5 bis 20 ccm der zu analysierenden Harnstofflösung. Die Einfüllung der letzteren geschieht durch den über dem oberen Glashahn angebrachten kleinen Trichter, bevor der Oberteil des Apparates mit dem Unterteil verbunden ist. Sodann setzt man den Glashelm auf und sichert die Verbindung durch Gummiringe. Ein kleines Stativ hält den Apparat, wie in der Abbildung angegeben. Bei geöffnetem oberen Glashahn kommt nun der ganze Apparat in einen Thermostaten, am besten in ein vierwandiges Glasgefäß von geeigneter Größe, das so weit mit Wasser, am einfachsten von Zimmertemperatur, gefüllt ist, daß nur der obere Glastrichter und ein kleines Stück des freien Manometerschenkels herausragen. Die Temperatur des Wassers ist mit dem Thermometer zu kontrollieren, größere Schwankungen sind zu vermeiden. Man kann auch, wie wir es zuerst getan haben, unter Anwendung eines Thermostaten bei höherer Temperatur, z. B. 37^0, arbeiten. In diesem Falle muß der Thermostat ein Beobachtungsfenster haben, da die Ablesung gemacht werden muß, während der Apparat im Thermostaten steht. Nach einigem Verweilen im Wasserbad schließt man den oberen Hahn und überzeugt sich, daß das Manometer die Nullstellung beibehält. Ist das Temperaturgleichgewicht erreicht, so nimmt man den Apparat am Stativ aus dem Wasserbehälter und läßt durch Öffnen des unteren Glashahns eine bestimmte Anzahl Kubikzentimeter der Harnstofflösung in die Bromlauge fließen. Man schüttelt nun kräftig, aber mit der nötigen Vorsicht um, wobei das Manometer sofort einen Ausschlag gibt, stellt den Apparat wieder in den Wasserbehälter und liest nach einigen Minuten ab. Ist nach 10 bis 15 Minuten unter Ausschluß von Temperaturschwankungen der Manometerstand konstant geblieben, so erfolgt die endgültige Feststellung des Druckes und der Temperatur. Man kann jetzt, falls der Vorrat an Harnstofflösung im Zylinder ausreicht, ohne den Apparat auseinanderzunehmen, direkt den Versuch weiterführen, indem man eine weitere Anzahl Kubikzentimeter in die Bromlauge fließen läßt, so daß sich der neu erzeugte Druck zu dem der ersten Analyse addiert. Eventuell kann man noch einen dritten Versuch anschließen,

sofern die Harnstofflösung ausreicht und das Meßbereich des Manometers nicht überschritten wird.

Die abgelesenen Drucke werden mittels der gleich zu besprechenden Eichungskurve verwertet.

Da die Zersetzung des Harnstoffs durch die Bromlauge exotherm verläuft, so beobachtet man beim Stehen im Thermostaten meist eine geringe Druckabnahme, die auch dadurch veranlaßt sein kann, daß kleine Mengen Kohlensäure, die sich der direkten Absorption im Augenblick der Entstehung entzogen haben, nachträglich von der alkalischen Lauge absorbiert werden. In jedem Falle muß das Druckgleichgewicht abgewartet und sorgfältig darauf geachtet werden, daß der Schliff des Glashelms bei dem im Apparat herrschenden Überdruck nicht undicht ist.

Die Eichungskurve läßt sich bei jeder beliebigen Meßtemperatur leicht herstellen. Man bedarf dazu nur einer genau eingestellten Harnstofflösung. Zur Konstruktion und zur analytischen Auswertung der Kurve werden alle Drucke auf 0° reduziert mittels der Gleichung:

$$p_0 = \frac{273 \cdot p_t}{273 + t}.$$

Die Formel, die bekanntlich nur bei konstantem Volumen gilt, bringt durch die Vernachlässigung der geringen Volumzunahme des Gasinhalts des Apparates einen kleinen Fehler in die Nullwerte. Die Größe desselben liegt aber unterhalb der Beobachtungsfehler.

In der ersten Tabelle geben wir die mit verschiedenen Mengen einer genau $1^0/_0$igen Harnstofflösung unter Verwendung des Quecksilbermanometers erhaltenen Ablesungswerte und die auf 0° reduzierten Werte.

Die Einzelwerte sind in voneinander unabhängigen Versuchsreihen ermittelt.

Die auf 0° reduzierten Mittelwerte, die zur Darstellung der Kurve benutzt werden, sind die folgenden:

Für 0,01 g Harnstoff . . . . 1,99 cm
„ 0,02 g „ . . . . 3,92 cm
„ 0,03 g „ . . . . 6,15 cm
„ 0,04 g „ . . . . 8,10 cm.

Tabelle I.

Angewandte Harnstofflösung	p_t in cm Hg	p_0 in cm Hg	Menge Harnstoff g
1 ccm 1%ige Lös. + 4 ccm Wasser	$2{,}10_{18^\circ}$ $2{,}03_{16{,}25^\circ}$ $2{,}26_{18^\circ}$	1,97 1,92 2,09	0,01
2 ccm 1%ige Lös. + 3 ccm Wasser	$4{,}25_{18{,}5^\circ}$ $4{,}00_{16{,}25^\circ}$ $4{,}50_{37^\circ}$	3,91 3,77 4,09	0,02
3 ccm 1%ige Lös. + 2 ccm Wasser	$7{,}02_{37^\circ}$ $6{,}56_{19{,}5^\circ}$ $6{,}60_{19{,}4^\circ}$	6,18 6,12 6,16	0,03
4 ccm 1%ige Lös. + 1 ccm Wasser	$9{,}20_{37^\circ}$ $8{,}60_{19^\circ}$	8,10 8,10	0,04

Trägt man die Nullwerte in ein rechtwinkliges Koordinatensystem ein, so erhält man, falls die Ordinaten den Drucken, die Abszissen den Harnstoffmengen entsprechen, eine gerade Linie, die gestattet, aus dem bei der Analyse gefundenen und auf Null Grad reduzierten Druck sofort zahlenmäßig den Harnstoffwert zu entnehmen (Fig. 2). Diese empirische Eichung macht die Analyse von den Fehlern frei, die von der Unvollständigkeit der Reaktion herrühren, aber nicht von den, die durch die im Urin außer dem Harnstoff nach der üblichen Vorbehandlung noch vorhandenen mit Bromlauge Stickstoff liefernden Substanzen bedingt sind. Da diese Substanzen aber gegenüber dem Harnstoff an Menge weit zurückstehen, wird es genügen, einen Urin mit einem auf anderem Wege genau festgestellten Harnstoffgehalt zur Herstellung der Eichungskurve für alle Urine zu verwenden. Diese Feststellungen werden im Laufe der weiteren Untersuchungen nachgeholt werden.

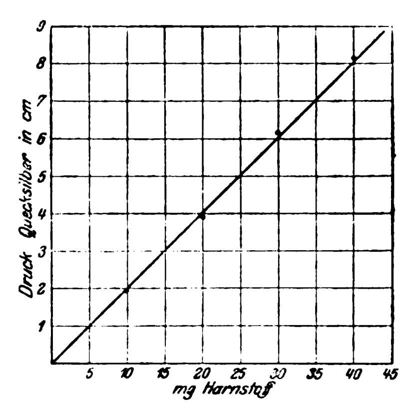


Fig. 2.

Um uns über die Konstanz der Werte bei einer Harn-

analyse zu unterrichten, haben wir zunächst die gefundenen Drucke direkt auf die abgebildete Eichungskurve angewandt. Wir teilen einen derartigen Versuch mit.

25 ccm Urin wurden in saurer Lösung mit Phosphorwolframsäure in bekannter Weise gefällt, das Volumen auf 100 ccm ergänzt und das Filtrat zur Analyse benutzt. Wir erhielten folgende Werte:

Harnmenge	$p_{27°}$	p_0
5 ccm Filtrat = 1,25 ccm Urin	2,26 cm	2,10 cm
10 " " = 2,5 " "	4,36 "	4,16 "
15 " " = 3,75 " "	6,75 "	6,29 "
20 " " = 5,0 " "	9,40 "	8,76 "

Entnimmt man der Kurve die entsprechenden Harnstoffwerte, so findet man:

0,011 g 0,021 g 0,031 g 0,043 g.

Umgerechnet auf 100 ccm unverdünnten Urin ergeben sich die Werte:

0,88 % 0,84 % 0,83 % 0,86 %.

Die Übereinstimmung ist also eine durchaus genügende.

Bei einer zweiten Versuchsreihe mit demselben Urin fanden wir folgende, auf Null-Grad reduzierte Drucke:

2,10 cm 4,20 cm 6,32 cm

für 5, 10 und 15 ccm des Filtrats.

Um den Apparat für die geringen Harnstoffmengen im Blut zu benutzen, steigerten wir, wie schon erwähnt, die Empfindlichkeit durch Ersatz der Quecksilbersäule im Manometer durch eine Wassersäule. Zur Eichung benutzten wir eine Harnstofflösung, die in 1 l 0,250 g Harnstoff enthielt. Wir geben von den zur Eichung benutzten Analysen eine Versuchsreihe wieder, nach der die beigefügte Kurve konstruiert ist.

Tabelle II.

Angewandte Harnstofflösung	p_t in cm Wasser	p_0 in cm Wasser	Harnstoffmenge g
0,025 %ige Lösung 5 ccm	$2{,}2_{14,9°}$	2,09	0,00125
0,025 %ige " 10 "	$4{,}6_{15,1°}$	4,36	0,0025
0,025 %ige " 15 "	$6{,}4_{15,1°}$	6,07	0,00375
0,025 %ige " 20 "	$8{,}9_{15,4°}$	8,43	0,0050

Aus diesen Zahlen, welche die Mittelwerte mehrerer voneinander unabhängiger, gut übereinstimmender Beobachtungen wiedergeben, ist die beifolgende Eichungskurve (Fig. 3) konstruiert.

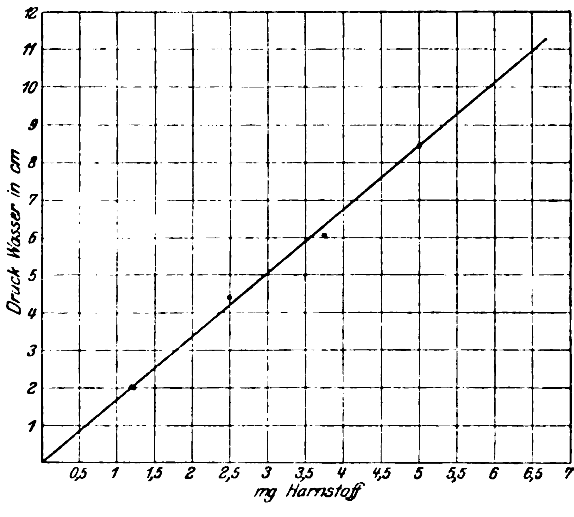


Fig. 3.

Als Beispiel einer Analyse sei die Harnstoffbestimmung im Serum von Pferdeblut mitgeteilt.

20 ccm Serum wurden mit der gleichen Menge 20%iger Trichloressigsäure enteiweißt. 20 ccm des Filtrats gebrauchten 1,5 ccm Natronlauge (ca. 30%) zur Neutralisation. Die so resultierenden 21,5 ccm wurden in den mit 15 ccm Bromlauge versetzten Apparat gebracht; nach Zufluß von je 5 ccm wurde eine Bestimmung ausgeführt, ohne daß der Apparat inzwischen geöffnet war:

Zugesetzte Serumflüssigkeit ccm	p_t in cm Wasser	p_0	Harnstoffmenge mg	Gehalt des Serums %
5	$2{,}0_{18,6^\circ}$	1,87	1,3	—
10	$3{,}6_{18,7^\circ}$	3,37	2,0	0,04
15	$4{,}8_{18,8^\circ}$	4,49	2,6	0,037
20	$6{,}2_{18,9^\circ}$	5,80	3,4	0,036

Der erste Wert ist zweifellos zu hoch. Der stets mit der Lupe abgelesene Manometerausschlag war zu klein, um den Einfluß von Ablesungsfehlern auszuschalten. Ausschläge von

über 2 cm geben aber schon genügend genaue Werte, so daß mit Hilfe dieser Methode selbst bei niedrigen Harnstoffwerten 5 bis 10 ccm Serum genügen.

Bei der in der letzten Zeit besonders betonten Bedeutung des Reststickstoffs für diagnostische Zwecke wird die Methode von Nutzen sein können, wenn es gilt, den Anteil des Harnstoffs am Reststickstoff schnell zu bestimmen. Auch nach dieser Richtung, Verwertung der Methode zur Blutanalyse, werden die Versuche weiter fortgesetzt.

Über den Mechanismus einiger experimentellen Hyperglykämieformen bei Kaninchen.

II. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 3. Juni 1914.)

Mit 3 Figuren im Text.

Aus mehreren älteren und neueren Untersuchungen[1]) geht hervor, daß man durch die Narkose eine experimentelle Hyperglykämie — besonders nach Piqûre — bei Kaninchen verhindern kann. Andererseits hat Jacobsen[2]) im hiesigen Institut nach demselben Narkoticum (Chloral) bei denselben Hyperglykämieformen ein gewaltiges Ansteigen des Blutzuckers mit entsprechender Glucosurie nachgewiesen — also ein gerade entgegengesetztes Resultat erhalten. Dieser Widerspruch ist nach des Verfassers[3]) Untersuchungen dadurch zu erklären, daß eine mäßige Narkose die experimentelle Hyperglykämie verhindert, eine starke Narkose sie aber befördert. Verfasser konnte durch Verwendung von Urethan in mäßiger, aber zur Narkose genügender Quantität die Hyperglykämie nach psychischer Erregung, Aderlaß, Nervenerregung, Piqûre und Coffein (Diuretin) ganz oder teilweise aufheben.

Gegen die obige Schlußfolgerung des Verfassers lassen sich aber mehrere Einwände erheben, aus welchem Grunde die Untersuchungen weiter fortgesetzt worden sind:

1. Da Verfasser keine Versuche über experimentelle Hyperglykämien nach großen Urethanmengen mitgeteilt hat, wäre

---

[1]) Vgl. Neubauer, diese Zeitschr. **43**, 335, 1912.

[2]) Jacobsen, ebenda **51**, 443, 1913.

[3]) Bang, ebenda 58, 236, 1913.

es denkbar, daß Urethan im Gegensatz zum Chloral immer die Blutzuckersteigerung verhindert. Selbst wenn man aber in einigen Fällen von intensiver Urethannarkose eine Steigerung nachweisen könnte, ließe sich erwidern, daß möglicherweise die Versuchstiere auf Urethan in Verbindung mit dem experimentellen Eingriff verschieden reagieren könnten. Um ein eindeutiges Ergebnis erzielen zu können, war es deswegen notwendig, an einem und demselben Versuchstiere die experimentelle Hyperglykämieform nach mäßiger und tiefer Urethannarkose zu erzeugen. Schließlich wäre es erforderlich, die Blutzuckerkurve der reinen Hyperglykämieform an diesem Versuchstier festzustellen. Unter diesen Umständen konnten die meisten Hyperglykämieformen, wie Piqûre, Aderlaß usw., nicht in Betracht kommen. Dagegen war die Diuretinhyperglykämie brauchbar, weil die Tiere dadurch nicht stark beeinflußt werden. Es wurde überall 1 g Diuretin verwendet. Der einschlägige Versuch hat, wie erwartet, die Richtigkeit meiner obigen Folgerung anscheinend bestätigt, wie die folgende Tabelle und Kurventafel zeigen können.

Tabelle I.

		1 g Diuretin %	1 g Diuretin + 2 g Urethan %	1 g Diuretin + 3 g Urethan %
Präformierter Blutzucker		0,13	0,15	0,14
1/2 Std.	nach Diuretin- bzw. Urethanzufuhr	0,15	0,17	—
1 „		0,20	0,14	0,22
1 1/2 „		0,25	—	0,24
2 „		0,23	0,14	0,27
3 „		0,24	0,13	0,31
4 „		0,23	0,14	0,31
5 „		0,20	0,13	0,30
7 „		0,14	0,13	0,24
24 „		—	—	0,16

Nach Diuretin allein eine starke Hyperglykämie, die an dem mäßig narkotisierten Tier ganz unterdrückt wird, während beim stark narkotisierten Tiere eine noch bedeutend größere Blutzuckersteigerung eintritt.

2. Wie überzeugend auch dieser Versuch erscheint, kann man doch dagegen einwenden, daß vielleicht die starke Blutzuckersteigerung im dritten Versuch von dem begleitenden

Temperatursturz bedingt sei. Denn je tiefer die Narkose, um so mehr sinkt die Körpertemperatur. Und bekanntlich bedingt eine Abkühlung (durch kaltes Wasser) eine Hyper-

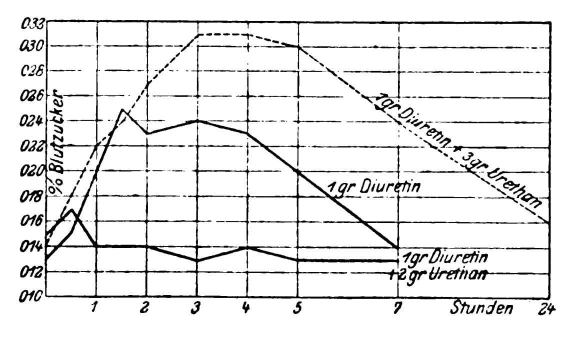


Fig. 1.

glykämie. Die einschlägigen Versuche scheinen auch anfangs für diese Möglichkeit zu sprechen, was auch in der eben erschienenen Abhandlung von **Klercker**[1]) erwähnt worden ist. Fortgesetzte Untersuchungen haben aber ein anderes Ergebnis geliefert:

Tabelle II.

Vers.-Nr.	1		2		3		4		5		6		7	
Urethan pro 1 kg + 1 g Diur.	1,6 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C	1 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C	1,4 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C	1,8 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C	1,5 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C	1,5 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C	1 g U. + 1 g D. %	Temperatur °C
Präf. Blutzucker	0,11	39,6	0,11	40,0	0,13	39,0	0,12	38,0	0,13	39,5	0,13	39,5	0,10	37,8
1 St. n. Urethanzufuhr	0,11	38,5	0,10	38,8	0,10	38,5	0,21	36,5	0,14	37,6	0,11	38,0	0,11	36,8
2 "	0,14	36,2	0,09	36,8	0.21	36.6	0,23	36,5	0.17	37,4	0,11	37,8	0,12	36,3
3 "	0,14	36,4	0,10	36,0	0.24	35,8	0,28	36,4	0.20	36,5	0,13	37,6	0,15	36,3
5 "	0,25	36,0	0.10	35,0	0.28	37,5	0,27	34,6	0,23	36,1	0.13	38,3	0,18	37,0
7 "	0,26	35,6	0,15	34,9	0,25	37,2	—	—	0,15	35,5	0,10	38,3	0,18	37,0
9 "	0,20	34,2	0,13	34,9	0,26	36,2	—	—	0,11	36,0	0,12	38,4	0,15	36,6
Differenz	+ 0,15	− 5,4	+ 0,04	− 5,1	+ 0,15	− 3,2	+ 0,16	− 3,4	+ 0,10	− 4,0	0	− 2,0	+ 0,08	− 1,5

Die übrigen Versuche stimmen mit den angeführten überein. Das Diuretin wurde hier, wie immer, 1 Stunde nach der Urethaninjektion subcutan eingespritzt.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, kann ein bedeutender Temperatursturz ohne größere Blutzuckersteigerung eintreten

[1]) af **Klercker**, diese Zeitschr. 62, 11, 1914.

und umgekehrt. Ebenso überzeugend sind die zeitlichen Verhältnisse von Blutzucker und Temperatur. Die Temperatur fängt gleich nach eingetretener Narkose an zu sinken, bleibt dann nach 2 bis 3 Stunden unverändert stehen oder sinkt noch weiter langsam. In ein paar Versuchen fängt sie aber nach erreichtem Minimum wieder an zu steigen. Der Blutzuckergehalt bleibt gewöhnlich in den ersten Stunden unverändert. Erst nach 2 bis 3 Stunden beginnt die Steigerung. In einem Versuch (Nr. 3) steigen sogar Blutzuckergehalt und Temperatur zu gleicher Zeit! Schließlich findet man in den einzelnen Versuchen das zeitliche Verhältnis von Temperatur und Blutzucker sehr verschieden. Z. B. sinkt im Versuch Nr. 2 die Temperatur in den ersten 3 Stunden um 4°, während der

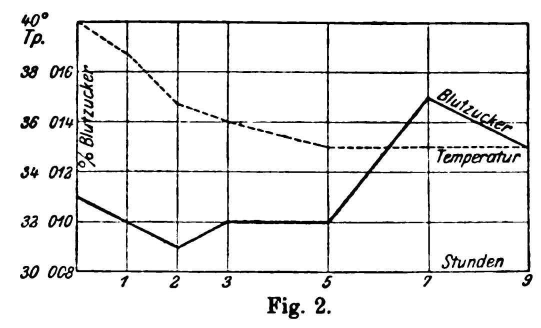


Fig. 2.

Blutzuckergehalt unverändert bleibt. Im Versuch Nr. 3 findet man nach 2 Stunden eine Blutzuckersteigerung von 0,07 % mit einem Temperatursturz von 2,4° (vgl. Kurventafel II und III) usw. Die Folgerung scheint also berechtigt, daß die Hyperglykämie nicht vom Temperatursturz bedingt ist.

3. Wenn eine intensive Urethannarkose die Diuretinhyperglykämie wesentlich verstärken soll, ist diese Folgerung nicht zwingend. Man kann mit demselben Recht annehmen, daß das Diuretin das Auftreten einer Urethanhyperglykämie begünstigt hat. Sowohl Urethan wie Diuretin besitzen hyperglykämische Wirkungen, Urethan allerdings wie die übrigen Narkotica erst in größeren Dosen. Es wäre dann denkbar, daß der von Diuretin angegriffene Organismus bedeutend stärker auf Urethan reagieren könnte, bzw. daß eine an sich nicht hyperglykämisch wirksame Urethandosis dadurch effektiv werden könnte.

Um dieser Möglichkeit nähertreten zu können, war es notwendig, an demselben Tiere sowohl die reinen Diuretin- und Urethanwirkungen wie die Wirkungen der kombinierten Zufuhr von beiden zu studieren. Es war deswegen notwendig, an demselben Tier mindestens 5 Versuche anzustellen, was mit der praktischen Schwierigkeit verknüpft war, daß viele Tiere die sämtlichen, recht eingreifenden Versuche nicht überlebten. Jedenfalls war es notwendig, zwischen den einzelnen Versuchen längere Zeit (bis 2 Wochen und darüber) abzuwarten, bis der

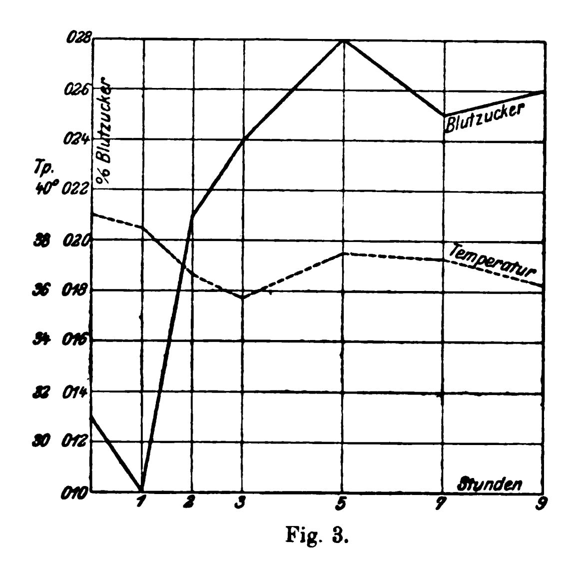


Fig. 3.

oft eingetretene Gewichtsverlust ausgeglichen worden war. Die Versuchsserie dauerte demzufolge 1 bis 2 Monate, und es ist nicht undenkbar, daß die Empfindlichkeit der Tiere während dieser Zeit verändert wurde, obwohl diese Möglichkeit, wie unten ersichtlich, recht irrelevant ist.

Selbst nach einer gelungenen Versuchsserie dürfte es anscheinend schwer sein, zu sagen, inwieweit die Steigerung des Blutzuckers in den kombinierten Versuchen einer Urethan- oder einer Diuretinhyperglykämie entsprach. Hierbei hat ein unerwartetes Ergebnis die Entscheidung wesentlich vereinfacht: Es zeigte sich nämlich in den meisten Versuchen, daß das Diuretin an sich **keine** Blutzuckersteigerung bewirkte. Außer dem schon angeführten Versuch war in 7 von 8 Versuchen

das Diuretin **vollständig oder so gut wie vollständig wirkungslos.**

Tabelle III.

Vers.-Nr. . . .	1	2	3	4	5	6	7	8
Gewicht . . .	2500 g	—	1700 g	1700 g	2100 g	2000 g	2700 g	2600 g
Präf. Blutzucker	0,11%	0,12%	0,11%	0,11%	0,11%	0,13%	0,11%	0,11%
1 Std. nach Diuretinzufuhr	0,11	0,13	0,10	0,21	0,12	0,13	0,12	0,13
2 „	0,11	0,11	0,10	0,24	0,12	0,14	0,12	0,12
3 „	0,13	0,11	0,13	0,21	0,12	0,12	—	—
4 „	—	—	—	—	—	—	0,11	—
5 „	0,11	0,09	0,14	0,11	0,12	0,12	—	0,10
6 „	—	—	—	—	—	—	—	—
7 „	0,09	—	0,12	0,11	0,11	0,12	0,15	0,10
8 „	—	—	—	—	—	—	—	—
9 „	0,08	—	—	—	—	—	0,10	—
Harnzucker	0	0	0	+	0	0	0	0

Man vergleiche hiermit z. B. Stenströms[1]) Ergebnisse, wo in 5 Versuchen mit Diuretinvergiftung konstant Hyperglykämie gefunden wurde, während oben 7 von 8 Versuchen keine Blutzuckersteigerung ergaben. Die Diuretinmenge war in meinen Versuchen überall 1 g, und die Versuchstiere reagierten sämtlich sehr stark auf die Diuretinzufuhr: sie schrieen laut und warfen sich im Käfig umher. Die meisten Tiere waren „gewöhnte" Laboratoriumstiere, einige jedoch erst kurz vorher eingekommen. Das Diuretin war ein tadelloses Präparat.

Die Tatsache, daß die Tiere so verschieden auf Diuretin reagieren, zeigt unzweideutig, daß das Diuretin nicht direkt zuckermobilisierend wirkt, wie z. B. das Adrenalin. Ebensowenig darf man annehmen, daß eine direkte Erregung des Zuckerzentrums vorliegt wie bei der Piqûre, die konstant eine Hyperglykämie an wohlernährten Tieren (wie sie es in meinen Versuchen waren) bewirkt. Vielmehr hat man Grund, anzunehmen, daß der Mechanismus der Diuretinwirkung mit der psychischen Hyperglykämie übereinstimmt, oder auch, daß der Mechanismus in beiden Fällen derselbe ist. Hierfür spricht der Umstand, daß in Stenströms Versuchen eine kleine Diuretinmenge von 0,5 g eine ebenso große oder noch größere Wirkung wie die doppelte Menge in anderen Versuchen ausübte.

[1]) Stenström, diese Zeitschr. **49**, 225, 1913.

Wenn nun die Diuretinhyperglykämie in den meisten obigen Versuchen ausgeblieben ist, hat es Interesse, nachzusehen, wie diese Tiere sich gegenüber einer psychischen Erregung verhalten. Solche Versuche sind mit den Kaninchen Nr. 7 und 8 am Tage nach dem Diuretinversuche angestellt. Die Tiere wurden während 5 Minuten auf dem Operationstisch gefesselt und erregt und zeigten hierbei deutliche, ja starke Zeichen von Schreck und Furcht: sie schrieen und bemühten sich, loszukommen. Eben diese Tiere waren früher, abgesehen von den Diuretinversuchen, nicht verwendet worden. Die Erregungsversuche lieferten folgendes Ergebnis:

Tabelle IV.

	Nr. 7 %	Nr. 8 %
Präformierter Blutzucker . . .	0,12	0,11
5 Min. nach der Erregung . .	0,19	0,13
35 „ „ „ „ . .	0,19	0,13
1 Std. 5 Min. nach der Erregung	0,13	. 0,11

Nr. 8 reagierte etwas weniger stark psychisch als Nr. 7.

Wie ersichtlich, ist Nr. 8 refraktär gegen die Erregung ebenso wie gegen die Diuretinwirkung gewesen, während Nr. 7 eine psychische (obwohl keine starke), aber keine Diuretinhyperglykämie aufwies.

Nach der gewöhnlichen Ansicht ist sowohl die psychische wie die Diuretinhyperglykämie eine Adrenalinhyperglykämie. Aus Stenströms[1]) Untersuchungen in dem hiesigen Institut geht hervor, daß Pituitrin die reine Adrenalinwirkung ebenso wie das Auftreten der experimentellen Hyperglykämie nach Aderlaß, Piqûre, Diuretin, psychischer Erregung usw. zu verhindern vermag. Es wäre dann denkbar, daß das Ausbleiben der Diuretinhyperglykämie von einer vermehrten Pituitrinsekretion bedingt sei. Diese Möglichkeit läßt sich experimentell prüfen. Die eben erschienenen Untersuchungen aus dem hiesigen Institut von Böe beweisen, daß die Thyreoidea eine pituitrinparalysierende Substanz zum Blute abgibt. Durch Fütterung mit Thyreoidea kann man die Adrenalinhemmung des Pitui-

[1]) Stenström, diese Zeitschr. 49, 225, 1913.

trins ausschließen, welche Wirkung recht lange Zeit, solange die Thyreoideasubstanz im Blute zirkuliert, dauert. Wäre nun die fehlende Diuretinhyperglykämie von einer Hypersekretion von Pituitrin bedingt, so müßte man nach Fütterung mit Thyreoidea die Diuretinhyperglykämie hervorrufen können. Dasselbe dürfte auch betreffs der psychischen Hyperglykämie der Fall sein. Wie die folgenden Versuche zeigen, trifft aber diese Möglichkeit nicht zu. Die Versuchstiere (Nr. 7 und 8) wurden während einer Woche mit Thyreoideatabletten gefüttert. Das Gewicht sank bei Nr. 7 von 2600 auf 2200 g und bei Nr. 8 von 2600 auf 2150 g.

Tabelle V.

		Nr. 7		Nr. 8	
		Diuretin-versuch %	Erregung %	Diuretin-versuch %	Erregung %
Präformierter Blutzucker . .		0,11	0,11	0,10	0,12
10 Min.	nach der Erregung bzw. Diuretinzufuhr	—	0,13	—	0,12
30 „		—	0,13	—	0,12
1 Std. — „		0,15	—	0,14	—
1 „ 30 „		—	0,10	—	0,15
2 „ — „		0,13	—	0,13	—
2 „ 30 „		—	—	—	0,14
5 „ — „		0,09	—	0,13	—

Die Tiere reagieren fortwährend stark auf Diuretin und Fesselung mit Schreien usw. In keinem Versuche ist aber eine nennenswerte Steigerung des Blutzuckers zu sehen.

Das Ausbleiben der Diuretinhyperglykämie ist also nicht von einer Hypersekretion von Pituitrin bedingt. Und wir können überhaupt keine Erklärung für das merkwürdige Verhältnis geben, daß Diuretin unter Umständen eine starke Hyperglykämie, in anderen Fällen absolut keine Blutzuckersteigerung bedingen kann. Wir können nur darauf verweisen, daß die Wirkung einer psychischen Erregung ebenfalls bisweilen eine zuckermobilisierende ist und bisweilen nicht — selbst wenn die Tiere nicht an das Laboratoriumleben gewöhnt sind (obwohl in der Regel gleich eingekommene Tiere mit Hyperglykämie reagieren), während gewöhnte Tiere keine Erregung und keine Blutzuckersteigerung zeigen. Sie können aber, wie

ersichtlich, psychisch reagieren ohne gleichzeitige Hyperglykämie. Das entgegengesetzte Verhältnis: Hyperglykämie ohne sichtbare Erregung, schein nicht vorzukommen. Es ist aber zweifelhaft, ob die Diuretinhyperglykämie einen mit der psychischen Hyperglykämie identischen Mechanismus besitzt, da, wie oben beim Versuch Nr. 7, an demselben Tiere die eine Form auftreten kann, wenn die andere ausbleibt. Freilich ist hiermit ein Gegensatz nicht bewiesen. So viel kann man aber folgern, daß der Mechanismus dieser beiden Formen mehr kompliziert sein muß, als man angenommen hat.

Wenn die Diuretinhyperglykämie keine konstante Erscheinung darstellt, kann man unmöglich mit Nishi die Glucosurie, die ebenfalls in den 7 Versuchen fehlte, als Kriterium einer gelungenen Sympathicusdurchschneidung benutzen, wenn man nicht vorher die Wirkung des Diuretins an dem Versuchstiere festgestellt hat. Dieselbe Bemerkung macht sich übrigens gegen meine eigenen früheren Urethan-Diuretinversuche geltend (vgl. meine vorige Abhandlung): Die Hyperglykämie ist vielleicht ausgeblieben, weil das Diuretin selbst wirkungslos war. Diese Anmerkung trifft aber nicht für den ersten, oben mitgeteilten Versuch zu. Hier wurde tatsächlich die Diuretinwirkung durch Urethan gehemmt. Dasselbe Ergebnis lieferte auch der zweite Versuch, wo das Kaninchen Diuretinhyperglykämie zeigte, obwohl der Unterschied lange nicht so groß war. Dieser Versuch besitzt auch das Interesse, daß die Wirkungen von geringeren und größeren Urethanmengen allein und mit Diuretin kombiniert festgestellt wurden.

Nach Diuretin allein steigt der Blutzuckergehalt von 0,12 % auf 0,24 %, nach Diuretin und 1 g Urethan pro Kilogramm ist die Steigerung von 0,10 % bis 0,18 %. Der absolute Unterschied beträgt also 0,12 % gegen 0,08 %. Weiter ist ersichtlich, daß diese Steigerung erst 2 bis 3 Stunden nach der Diuretininjektion eintrat, während die reine Diuretinhyperglykämie gleich einsetzt. Nach Stenströms Versuchen tritt die Blutzuckersteigerung unmittelbar nach der Diuretininjektion ein, steigt im Verlaufe von 1 bis 2 Stunden in die Höhe, um wieder rasch abzusinken. Hiermit stimmt der obige Diuretinversuch gut überein: Nach 2 Stunden ist das Maximum erreicht, während in dem kombinierten Versuch nach 2 Stunden die Steigerung eben

Tabelle VI.

Datum	5. II.	20. II.	2. III.	13. III.	14. III.
Gewicht	1700 g	1700 g	1850 g	1790 g	1600 g
Quantität v. Urethan pro kg und Diuretin	1 g D.	1 g U.	1,5 g U.	1 g D. + 1 g U.	1 g D. + 1,5 g U.
Präf. Blutzucker	0,12%	0,12%	0,12%	0,10%	0,10%
1 Std. nach Urethanzufuhr[1])	0,21	0,11	0,12	0,11	0,20†
2 "	0,24	0,11	0,12	0,12	—
3 "	0,21	0,13	0,11	0,15	—
4 "	—	—	—	0,18	—
5 "	0,11	0,13	0,11	—	—
6 "	—	—	—	0,18	—
7 "	0,11	0,13	0,11	—	—
8 "	—	—	—	0,18	—
9 "	—	0,11	0,11	—	—
10 "	—	—	—	0,16	—
12 "	—	—	—	0,18	—
24 "	—	—	—	0,11	—

angefangen hat (also 3 Stunden nach der Urethaninjektion!). Dagegen fängt die Blutzuckersteigerung nach Urethan allein (vgl. meine frühere Mitteilung und folgende Versuche) erst mehrere Stunden nach der Injektion an. Man darf deswegen eher folgern, daß die Diuretinhyperglykämie unterdrückt worden ist, während die Urethanhyperglykämie zum Vorschein gekommen ist. In dem letzten Versuch wurde eine große Steigerung unmittelbar nach der Diuretininjektion gefunden. Es dürfte zweifelhaft sein, inwieweit sich das Diuretin hierbei geltend gemacht hat. Das Tier starb unmittelbar nach der Diuretineinspritzung, höchstwahrscheinlich wegen Urethanvergiftung, trotzdem es 12 Tage vorher die gleiche Menge Urethan gut vertragen hatte. Der Gewichtsverlust gibt die Erklärung! Trotz reichlicher Fütterung hat das Tier 250 g abgenommen. Das früher wohlernährte Tier (es hatte 150 g an Gewicht zugenommen!) ist empfindlicher gegen Urethan und reagiert deswegen mit Hyperglykämie. Ähnliche Beobachtungen werden in der folgenden Mitteilung veröffentlicht.

Die folgenden Versuchsserien dürften die Entscheidung über den Mechanismus der Diuretin-Urethanhyperglykämie näher bringen.

---

[1]) Bzw. im Versuch vom 5. II. nach Diuretin. In den Versuchen vom 13. III. und 14. III. wurde das Diuretin eine Stunde nach der Urethanzufuhr eingespritzt.

Tabelle VII.

Serie a.

Datum	22. I.	24. I.	27. I.	6. II.
Gewicht	2800 g	2800 g	2800 g	2500 g
Quantität von Urethan pro kg und Diuretin	1 g D.	1 g U.	1,6 g U.	1,8 g U. + 1 g D.
Präf. Blutzucker	0,09 %	0,10 %	0,11 %	0,13 %
1/2 Std. nach der Urethanzufuhr	—	—	—	0,21
1 „	0,13	0,10	0,11	0,23
2 „	0,11	0,11	0,10	0,28
3 „	0,11	0,11	0,11	0,25
3 1/2 „	—	0,09	—	0,27
5 „	0,09	0,12	0,14	—
7 „	—	—	0,13	—

Serie b.

Datum	7. II.	12. II.	16. II.	5. III.	14. III.
Gewicht	2100 g	2100 g	2100 g	2200 g	2300 g
Quantität v. Urethan pro kg und Diuretin	1 g U.	1 g D.	1 g U. + 1 g D.	1,5 g U. + 1 g D.	1,6 g U. + 1 g D.
Präf. Blutzucker	0,13 %	0,11 %	0,14 %	0,13 %	0,11 %
1 Std. nach der Urethanzufuhr	0,14	0,13	0,12	0,11	0,11
2 „	0,12	0,12	0,16	0,11	0,14
3 „	0,11	0,12	0,16	0,13	0,27
5 „	0,11	0,12	0,15	0,13	0,25
7 „	0,12	0,11	0,13	0,10	0,26
9 „	0,11	—	0,13	0,12	0,26
11 „	—	—	—	0,12	0,20
13 „	—	—	—	—	0,18
24 „	—	—	—	—	0,16

Serie c.

Datum	5. II.	20. II.	2. III.	13. II.	14. III.	14. V.
Gewicht	1700 g	1750 g	1900 g	1800 g	1900 g	2300 g
Quantität v. Urethan pro kg und Diuretin	1 g D.	1 g U.	1,5 g U.	1 g U. + 1 g D.	1,5 g U. + 1 g D.	1,7 g U.
Präf. Blutzucker	0,11 %	0,10 %	0,13 %	0,13 %	0,13 %	0,11 %
1 Std. nach der Urethanzufuhr	0,10	0,11	0,13	0,14	0,14	0,12
2 „	0,11	0,14	0,15	0,14	0,14	0,13
3 „	0,13	0,14	0,14	0,17	0,20	0,15
5 „	0,14	0,12	0,14	0,18	0,23	0,16
7 „	0,12	0,11	0,13	0,19	0,15	0,16
9 „	—	—	—	0,16	0,11	0,17
11 „	—	—	—	0,15	—	0,15
24 „	—	—	—	—	—	0,22

In sämtlichen 3 Serien war Diuretin ohne Wirkung. Weiter bewirkte die Kombination mit Urethan (1,5 bis 1,8 g pro Kilogramm) und Diuretin eine recht große Hyperglykämie, die außerdem von Glucosurie begleitet war. In den zwei ersten Serien a und b fehlen die korrespondierenden Versuche mit denselben Urethandosen allein. Es bleibt also hier die Möglichkeit, daß das Urethan an sich vielleicht auch wirkungslos war. Da besonders in der Serie b die Hyperglykämiekurve nach Urethan-Diuretin nicht mit derselben nach Diuretin allein übereinstimmt, ist es wahrscheinlich, daß die Steigerung der Urethanwirkung entspricht. Um so mehr beweisend dürfte die dritte Serie c sein. Hier ist die Steigerung nach Diuretin allein 0,03%, nach 1,5 g Urethan pro Kilogramm und 1 g Diuretin 0,10%, nach 1,5 g Urethan pro Kilogramm 0,02%, aber nach 1,7 g Urethan pro Kilogramm 0,16%. Das Tier ist also für Urethan, nicht aber für Diuretin empfindlich. Eine geringere Urethandose (1,5 g pro Kilogramm), die allein ohne Wirkung ist, liefert mit Diuretin zusammen denselben Effekt wie eine größere Urethanmenge. Bemerkenswert ist in dem letzten Urethanversuch die langsame Steigerung des Blutzuckergehaltes, die erst nach 24 Stunden ihr Maximum erreicht hat. Es wurde reichlich Zucker ausgeschieden (13 ccm mit 1,7% Zucker). In dem kombinierten Versuch wird das Maximum schon nach 5 Stunden erreicht. Von jetzt ab sinkt der Blutzuckergehalt.

Besonders aus dem letzten Versuch läßt sich folgern, daß das Diuretin den Organismus derartig beeinflußt, daß er empfindlicher als sonst gegen Urethan wird. Hierfür spricht auch die Tatsache, daß die Versuchstiere nach Urethan-Diuretin überhaupt stärker angegriffen wurden als nach Urethan allein. In den zwei ersten Serien starben die Tiere unmittelbar nach dem letzten Versuch. Eine herabgesetzte Vitalität disponiert die Tiere für die Urethanhyperglykämie.

Mit dieser Folgerung stimmen die schon erwähnten Versuche von Jacobsen überein, der gewaltige Hyperglykämien an chloralisierten Tieren nach Aderlaß, Piqûre usw. fand: die durch den Eingriff heruntergekommenen Tiere reagierten stärker als sonst auf Chloral. Hierfür sprechen ebenfalls Jacobsens Blutzuckerkurven. Die Hyperglykämie war von

weit größerer Dauer als sonst. Besonders auffallend sind in dieser Beziehung einige Kurven nach Piqûre an chloralisierten Kaninchen. Nachdem der Blutzuckergehalt schon bis zum Maximum gestiegen und wieder gefallen war, ganz wie eine gewöhnliche Piqûrekurve, trat aufs neue eine ansehnliche Steigerung von längerer Dauer auf, eine Steigerung, die übrigens größer war als nach Chloral allein. Es ist schwer zu verstehen, warum die schon abgeklungene Wirkung des Zuckerstiches wieder einsetzen sollte. Dagegen ist es sehr plausibel, daß die zu richtiger Zeit eingetroffene Chloralwirkung in dem schon heruntergekommenen Organismus sich stärker geltend gemacht hat.

Nach den obigen Versuchen ist es also notwendig, die von mir aufgestellte Hypothese über die verstärkende Wirkung größerer Dosen von Narkotica auf experimentelle Hyperglykämieformen fallen zu lassen. Dagegen besteht zu Recht, daß kleinere Dosen diese Hyperglykämieformen ganz oder teilweise unterdrücken können.

Über den Mechanismus einiger experimentellen Hyperglykämieformen bei Kaninchen.

III. Mitteilung.

Von

Ivar Bang.

(Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Lund.)

(Eingegangen am 3. Juni 1914.)

Bekanntlich werden mit größerem oder geringerem Recht die experimentellen Hyperglykämieformen mit Ausnahme von Pankreasdiabetes als durch Adrenalin bedingt angesehen. Zwar hat man die Hyperglykämie nach Aderlaß einem anderen Mechanismus zuschreiben wollen. Nach des Verfassers Untersuchungen[1]) ist diese Auffassung indessen unhaltbar. Der Aderlaß an sich ist indifferent, die begleitende psychische Erregung ist für die Blutzuckersteigerung verantwortlich. Die Richtigkeit der Adrenalintheorie vorausgesetzt (und vieles spricht dafür), geht die Erregung über das Zuckerzentrum und weiter durch Sympathicus zur Nebenniere mit Sekretion von Adrenalin.

Wenn nun in der vorangehenden Abhandlung die Auffassung verteidigt worden ist, daß die Hyperglykämie nach Urethan-Diuretin einer Urethan- und nicht einer Diuretinhyperglykämie entspricht, müssen folglich diese beiden Hyperglykämieformen verschieden sein. Der Unterschied kann entweder dadurch bedingt sein, daß beide eine Adrenalinhyperglykämie sind, während z. B. die eine Form vielleicht die Nebenniere direkt, die andere durch Einwirkung auf das Zuckerzentrum dieselbe erregt. Oder es ist auch denkbar, daß nur die eine Form einer Adrenalinhyperglykämie entspricht, und die andere einen davon verschiedenen Mechanismus besitzt. Für den Fall, daß dies zutreffe, ständen wir einer neuen prinzipiell verschiedenen Hyperglykämieform

[1]) Bang, diese Zeitschr. 58, 236, 1913.

gegenüber, deren Bedeutung vielleicht nicht unterschätzt werden kann. Wir können nämlich mit Sicherheit behaupten, daß der genuine Diabetes nicht (abgesehen vom Pankreasdiabetes) den experimentellen Hyperglykämieformen entspricht. Und so viel auch das Studium aller dieser Fragen zur Aufklärung des Diabetes beitragen kann, soviel steht fest: der Diabetes hat nichts mit diesen Formen zu tun. Selbst wenn man deswegen nur eine prinzipiell neue vorübergehende Hyperglykämieform feststellen könnte, wäre viel gewonnen, weil die Möglichkeit zu neuen Perspektiven eröffnet wird.

Nun kann man mit guten Gründen die Diuretinhyperglykämie als eine Adrenalinhyperglykämie bezeichnen. Ist nun die Urethanhyperglykämie davon verschieden, so muß dieselbe entweder eine Adrenalinsekretion in anderer Weise als Diuretin bewirken, oder ihr Mechanismus ist auch ein anderer, vom Adrenalin unabhängig. Tatsächlich ist die letzte Möglichkeit zutreffend, wie im folgenden bewiesen werden soll.

Für die Beweisführung wird es zuerst notwendig sein, die hyperglykämische Wirkung des Urethans genau kennen zu lernen. Die folgende Übersichtstabelle I, welche die Ergebnisse von 30 Versuchen umfaßt, kann hierüber unterrichten.

Wie ersichtlich, bedingt eine Zufuhr von 1 g Urethan pro Kilogramm k e i n e Steigerung des Blutzuckers, auf der anderen Seite führt eine Injektion von 1,8 bis 2 g Urethan pro Kilogramm k o n s t a n t eine Hyperglykämie von bescheidener Höhe mit Die Zwischenwerte von 1,2 bis 1,7 g pro Kilogramm bedingen in einigen Versuchen eine Steigerung, in anderen nicht. Eine genauere Analyse von diesen Versuchen gibt die Erklärung hierfür.

Versuch 8 zeigt nach Zufuhr von nur 1,2 g Urethan pro Kilogramm den höchsten Blutzuckerwert von sämtlichen Versuchen. Das Kaninchen hatte aber 2 und 3 Tage vorher eine Urethanmenge von 1,5 g pro Kilogramm erhalten (Nr. 12 und 13). Es war nach dem letzten Versuch (Nr. 13) sehr heruntergekommen, wollte nicht fressen und hatte trotz Anurie 200 g an Gewicht abgenommen. Bemerkenswert ist, daß die zweite Injektion (Versuch 13) von 1,5 g Urethan eine Steigerung von 0,05 % bewirkte, während dieselbe Quantität den Tag vorher ohne Wirkung war. Diesmal war aber das Tier sehr wenig vom Urethan beeinflußt und die Narkose von kurzer Dauer.

Tabelle I.

Versuch Nr.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Urethan pro Kilogramm	1,0 g	1,0 g	1,0 g	1,0 g	1,0 g	1,0 g	1,2 g	1,2 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,5 g
Präf. Blutzucker	0,10%	0,13%	0,11%	0,10%	0,11%	0,12%	0,12%	0,14%	0,14%	0,11%	0,13%	0,13%	0,12%	0,10%	0,11%
1 Std. n. Urethanzufuhr	0,10%	0,14%	0,14%	0,11%	0,11%	0,12%	0,12%	0,14%	0,14%	0,13%	0,13%	0,11%	0,13%	0,07%	0,12%
2 " " "	0,11	0,12	0,13	0,14	0,11	0,13	0,12	0,13	0,14	0,16	0,15	0,12	0,13	0,10	0,12
3 " " "	0,09	0,11	0,12	0,14	0,13	0,13	0,11	0,14	0,16	0,15	0,14	0,11	0,15	0,11	0,11
5 " " "	0,12	0,11	0,12	0,12	0,13	0,11	0,14	0,17	0,16	0,13	0,14	0,11	0,17	0,16	0,11
7 " " "	0,12	0,12	0,12	0,11	0,12	0,10	0,13	0,18	0,16	0,14	0,13	0,11	0,14	0,18	0,11
9 " " "	0,11	0,11	0,12	0,11	0,11	0,08	0,13	0,20	0,12	0,13	0,12	0,09	0,12	0,23	0,11
11 " " "	—	—	—	—	—	—	—	0,37	—	—	—	—	—	—	—
24 " " "	—	—	—	—	—	0,10	—	—	—	—	—	—	0,14	—	—
Absolute Steigerung	0,02%	0,01%	0,03%	0,04%	0,02%	0,01%	0,02%	0,23%	0,02%	0,05%	0,02%	0	0,05%	0,13%	0,01%
Harnzucker	0	?[1]	?	?	?	0	?	Kein Harn	?	?	?	0	0	+ (0,5%)	0

Versuch Nr.	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Urethan pro Kilogramm	1,5 g	1,5 g	1,5 g	1,6 g	1,6 g	1,6 g	1,6 g	1,7 g	1,7 g	1,7 g	1,7 g	1,8 g	1,8 g	1,8 g	2 g
Präf. Blutzucker	0,13%	0,12%	0,11%	0,10%	0,07%	0,14%	0,09%	0,12%	0,11%	0,10%	0,11%	0,13%	0,10%	0,11%	0,11%
1 Std. n. Urethanzufuhr	0,11%	0,14%	0,10%	0,11%	0,08%	0,14%	0,09%	0,13%	0,12%	0,11%	0,12%	0,14%	0,11%	0,12%	0,18%
2 " " "	0,11	0,17	0,10	0,10	0,08	0,11	0,10	0,16	0,10	0,10	0,11	0,18	0,14	0,11	0,16
3 " " "	0,13	0,18	0,09	0,11	0,09	0,14	0,12	0,18	0,12	0,10	0,13	0,21	0,18	0,11	0,21
5 " " "	0,13	0,16	0,12	0,14	0,10	0,24	0,14	0,15	0,10	0,10	0,15	0,20	0,17	0,11	0,23
7 " " "	0,10	0,14	0,13	0,13	0,11	—	0,16	0,15	0,09	0,09	0,16	0,21	0,11	0,11	0,18
9 " " "	0,12	0,12	0,13	0,12	0,12	—	0,15	0,13	—	—					
11 " " "	—	—	—	—	0,15	—	—	—	—	—	0,16	0,22	0,13	0,14	0,17
24 " " "	—	0,09	0,10	—	—	—	—	—	0,09	0,09	0,22	—	0,24	0,25	—
Absolute Steigerung	0	0,06%	0,02%	0,03%	0,08%	0,10%	0,07%	0,06%	0,01%	0,01%	0,11%	0,09%	0,14%	0,14%	0,12%
Harnzucker	0	0	0	?	?	?	+ (1%)	0	0	0	+ (1,7%)	?	+	+	+

[1]) ? = Nicht untersucht.

Kaninchen Nr. 14 hatte vor dem Versuch 5 Tage gehungert. Kaninchen Nr. 20 hatte 3 Tage vorher 1,7 g Urethan pro Kilogramm bekommen. Es hatte sich seitdem nicht erholt.

Nr. 21 hatte vorher 12 Tage gehungert und jeden Hungertag dazu Adrenalin bekommen.

Nr. 22 und 26 hatten vor dem Versuche 5 Tage gehungert.

Solche Tiere also, die durch Hunger oder Experiment heruntergekommen sind, reagieren stark auf Urethan und bekommen Hyperglykämie. Diese Tatsache stimmt gut mit der in der vorangehenden Abhandlung verteidigten Folgerung, daß Diuretin für die Urethanhyperglykämie disponiert.

Sieht man von den erwähnten Tieren ab, zeigt nur eins von 9 Tieren nach Zufuhr von 1,5 g Urethan pro Kilogramm eine Steigerung des Blutzuckers von über 0,05 %, nämlich 0,06 % (Nr. 17). Die durchschnittliche Steigerung ist 0,026 % gegen 0,021 % nach Zufuhr von 1 g pro Kilogramm. Bei wohlernährten normalen Kaninchen bedingt also eine Zufuhr von 1,5 g Urethan pro Kilogramm keine nennenswerte Hyperglykämie.

Inwieweit dies auch für 1,6 bis 1,7 g Urethan zutrifft, läßt sich aus den wenigen Versuchen nicht sicher entscheiden. Doch ist es eigentümlich, wie wenig die Versuchstiere Nr. 23, 24 und 25 von 1,7 g Urethan pro Kilogramm berührt sind — sämtliche 3 Versuche mit normalen Tieren haben also entweder keine oder nur eine unbedeutende Steigerung erwiesen.

In bestimmtem Gegensatz hierzu stehen die Versuche (27), 28 und 29 mit 1,8 g Urethan pro Kilogramm — im Versuch 27 hatte das Tier 3 Tage vorher 1,5 g Urethan pro Kilogramm bekommen und der Versuch 27 dürfte deshalb als Beleg für Normaltiere ausgeschaltet werden. Aus ihrer Blutzuckerkurve ist aber ersichtlich, wie spät die Steigerung eintritt. Am Versuchstag selbst ist die Steigerung unbedeutend (und der Harn zuckerfrei), erst den folgenden Tag findet man die Hyperglykämie ebenso wie in Versuch 26 nach 1,7 g Urethan pro Kilogramm. In Übereinstimmung hiermit waren die Tiere den Tag nach dem Versuch sehr erschöpft, während sonst die Tiere sich rasch erholten und den folgenden Tag eifrig fraßen.

Als Hauptergebnis der Versuche kann man folgern, daß Kaninchen nur dann eine Hyperglykämie nach Urethan bekommen, wenn sie stark davon beeinflußt werden entweder

durch Zufuhr von 1,8 g Urethan pro 1 kg und darüber bei Normaltieren oder durch geringere Quantitäten bei heruntergekommenen Tieren. In den meisten Versuchen mit Hyperglykämie (Nr. 8, 14, 20, 21, 27, 29 und 30) starben die Tiere nachher (Nr. 22 und 26 wurden getötet).

Eine wichtige Erscheinung ist die begleitende Glucosurie, die unten besprochen werden soll.

Was am meisten bei der Urethanhyperglykämie ins Auge fällt, ist das späte Eintreten der Blutzuckersteigerung. In den meisten Versuchen findet man in den ersten Stunden überhaupt keine Steigerung, und wo diese, wie in den Versuchen Nr. 27, recht schnell eintritt, kommt jedenfalls das Maximum spät. In dieser Beziehung besteht ein großer Unterschied zwischen der Urethanhyperglykämie und derjenigen nach Adrenalin oder nach auf einer Adrenalinsekretion beruhenden Hyperglykämieform, wo die Steigerung rasch eintritt, um nach 1 bis 2 Stunden ihr Maximum zu erreichen. Dann sinkt der Blutzuckergehalt ebenso rasch wieder ab — genau wie nach Adrenalininjektion.

Noch mehr überzeugend sind die Versuche, wo die Blutzuckersteigerung sehr spät eintritt. Im Versuch Nr. 8 findet man bei einem heruntergekommenen Tiere erst zwischen der 9. und 11. Stunde die größte Steigerung, und ebenso im Versuch Nr. 20. Im Versuch Nr. 29 tritt erst am folgenden Morgen die wesentliche Steigerung ein, dauert aber dann bis zum Abend mit 0,25 $^0/_0$ Blutzucker; am folgenden Tage, also am 3. Tage nach dem Anfang des Versuches, ist der Blutzuckergehalt noch 0,19 $^0/_0$, sinkt aber dann im Laufe des Tages kontinuierlich ab (um 11 Uhr a. m. 0,17 $^0/_0$, um 8 Uhr p. m. 0,11 $^0/_0$). In Übereinstimmung hiermit war der Harn am 1. Tage zuckerfrei. Am 2. Tage kein Harn, am 3. Tage morgens wurden 105 ccm Harn mit viel Zucker geliefert. Im Versuch Nr. 28 war die Steigerung am 1. Tage mäßig, am 2. Tage morgens wurden 0,15 $^0/_0$ Blutzucker gefunden, erst am Abend des 2. Tages (8 Uhr p. m.) war der Blutzuckergehalt 0,24 $^0/_0$. Am folgenden Morgen war der Blutzuckergehalt wieder 0,13 $^0/_0$. Am 1. Versuchstage war der Harn zuckerfrei. Am 3. Tage morgens wurden 75 ccm stark zuckerhaltiger Harn geliefert. Die Tiere waren den 1. Tag

ganz narkotisiert, am folgenden Tage waren sie sehr heruntergekommen.

Der Versuch Nr. 26 ist noch interessanter. Hier war die Steigerung am 1. Tage recht gering; am folgenden Morgen wurden 0,21 % Blutzucker gefunden, mittags 0,22 % und abends 0,23 %. Am 3. Versuchstage war der Blutzuckergehalt fortwährend 0,22 % morgens, 0,17 % mittags und 0,15 % abends. Am 5. Tage war der Blutzuckergehalt noch 0,18 % und 0,16 % morgens. Am folgenden Tage (ebenso wie am 4. Versuchstage) war die Hyperglykämie vorbei. An diesem Tage starb das Tier. Auch hier war der Harn am 1. Versuchstage zuckerfrei. Am zweiten Versuchstage wurden 13 ccm Harn mit 1,7 % Zucker (gleich 218 mg) ausgeschieden. Am 3. Versuchstage wurden 32 ccm Harn mit 0,82 % Zucker ausgeschieden (gleich 265 mg). Am 4. Versuchstage war der Harn zuckerfrei, um am 5. Tage wieder etwas, aber wenig Zucker zu enthalten. In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen war das Tier am 2. und 3. Tage sehr heruntergekommen; den 4. Tag aber viel besser, frißt etwas und bewegt sich spontan, sieht aber etwas erschöpft aus. Am 5. Tage ist es wieder entschieden mehr heruntergekommen, kann aber etwas fressen. Am 6. Tage starb, wie bemerkt, das Tier. Zur besseren Übersicht werden die Ergebnisse in der folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle II.

Versuchstag	Nr. 26		Nr. 27		Nr. 28	
	Zeit	Blutzuckergehalt %	Zeit	Blutzuckergehalt %	Zeit	Blutzuckergehalt %
1.	8h a. m.	0,11	9h a. m.	0,10	9h a. m.	0,11
	8h p. m.	0,17	9h p. m.	0,13	9h p. m.	0,15
2.	8h a. m.	0,21	8h a. m.	0,15	8h a. m.	0,25
	2h p. m.	0,22	—	—	—	—
	5h p. m.	0,23	8h p. m.	0,24	8h p. m.	0,25
3.	9h a. m.	0,22	7h a. m.	0,13	7h a. m.	0,19
	1h p. m.	0,17	—	—	11h a. m.	0,17
	5h 30 p. m.	0,15	—	—	8h p. m.	0,11
4.	9h a. m.	0,17	—	—	—	—
5.	9h a. m.	0,10	—	—	—	—
6.	9h a. m.	0,11	—	—	—	—

Eine solche Dauer der experimentellen Hyperglykämie dürfte, abgesehen von Pankreasdiabetes, unbekannt sein. In

dieser Beziehung unterscheidet sich also die Urethanhyperglykämie nach solchen Urethanquantitäten, die das Versuchstier schwer beeinflussen, ohne doch im Laufe des 1. Tages zu töten, sehr prägnant von den übrigen Hyperglykämieformen. Das Verhältnis des Blutzuckers scheint außerdem dafür zu sprechen, daß das Adrenalin nicht für die Hyperglykämie verantwortlich ist.

Auch in einer anderen Beziehung zeichnet sich die Urethanhyperglykämie vor den übrigen Formen aus. Bekanntlich sind diese, wie besonders für die Hyperglykämie nach Piqûre erwiesen worden ist, von der Gegenwart des Leberglykogens abhängig. Bei Hungerkaninchen ist der Zuckerstich ohne Wirkung, wenn das Leberglykogen erschöpft worden ist. Ähnlich dürfte auch das Verhältnis bei den übrigen Formen — abgesehen vom Pankreasdiabetes — sein.

Bei der Urethanhyperglykämie ist aber die Gegenwart des Leberglykogens gleichgültig; es scheint sogar, daß die Hyperglykämie und die Glucosurie bei Hungertieren noch ausgiebiger sind als bei wohlgenährten Tieren (der Beweis hierfür steht freilich noch aus).

Im Versuch Nr. 20 hatte das Kaninchen 5 Tage gehungert. Der Blutzucker steigt von 0,09 % bis 0,17 %. Es wurden 50 ccm Harn mit 1 % Zucker ausgeschieden. Abends um 9 Uhr wurde das Tier getötet und die Leber auf Glykogen verarbeitet. Die Leber von 43 g Gewicht enthielt 60 mg Glykogen, als Zucker berechnet.

Im Versuch Nr. 14 steigt der Blutzuckergehalt nach 5 Tagen Hunger und 1,5 g Urethan pro 1 kg von 0,10 % auf 0,23 %. 47 ccm Harn mit 0,5 % Zucker wurden ausgeschieden. Die Leber (47 g) enthielt 30 mg Glykogen, als Zucker berechnet.

Also in dem ersten Versuch wurden 500 mg Zucker ausgeschieden, während die Leber nur 60 mg enthielt; im zweiten Versuch sind die Werte 235 mg und 30 mg. Nun ist es bekannt, daß die letzten Spuren von Glykogen nur sehr schwer aus der Leber entfernt werden können. Es ist undenkbar, daß die Leber, die abends 30 bis 60 mg Glykogen enthielt, morgens 560 bis 265 mg davon, oder daß die Leber nach 5tägigem Hunger noch $^1/_2$ bis 1 % Glykogen enthalten sollte, die dann im Laufe von einigen Stunden beinahe total mobili-

siert werden sollte. Gewiß kann man nicht den Ursprungswert des Glykogens am Versuchstage wissen, folglich sind hierüber nur Wahrscheinlichkeitsbeweise zu liefern. Es dürfte aber schwer sein, einen überzeugenderen Wahrscheinlichkeitsbeweis liefern zu können als den obigen. Man kann also folgern, daß die Urethanhyperglykämie und -glucosurie im Gegensatz zu den von Adrenalin abhängigen Formen von dem Leberglykogen unabhängig ist. (Hierfür sprechen auch andere, nicht publizierte Versuche des Verfassers, die zeigen, daß Adrenalin bei Hungertieren eine Glykogenablagerung in der Leber bewirkt.) Der ausgeschiedene Zucker muß demzufolge entweder vom Muskelglykogen oder von anderen Quellen herstammen. A priori ist das Muskelglykogen wahrscheinlich nicht der Ursprung. Dagegen kann man mit gutem Grunde das Eiweiß als Muttersubstanz des Harnzuckers vermuten, wenn man an den exakt nachgewiesenen Eiweißzerfall bei der intensiven Narkose erinnert.

Sprechen schon die angeführten Versuche mit Bestimmtheit dafür, daß die Urethanhyperglykämie vom Adrenalin unabhängig ist, so dürften die folgenden die exakte Entscheidung hierüber bringen. Vor einiger Zeit hat Stenström[1]) in einer Abhandlung aus dem hiesigen Institut bewiesen, daß Pituitrin die Adrenalinhyperglykämie zu verhindern vermag. Ebenfalls ließ sich die Hyperglykämie nach psychischer Erregung, Aderlaß, Piqûre und Coffein, kurz sämtliche auf einer Adrenalinsekretion beruhende Formen, durch Pituitrin unterdrücken. Durch Pituitrin wird es also möglich sein, das Kriterium darüber zu geben, inwieweit eine Hyperglykämie von Adrenalin abhängig ist oder nicht. Jedenfalls kann man exakt folgern, daß eine Form von Hyperglykämie, die nicht durch Pituitrin unterdrückt werden kann, nichts mit Adrenalin zu tun haben kann. Die folgenden Versuche zeigen, wie sich die Urethanhyperglykämie in dieser Beziehung verhält.

Der Harn war überall stark zuckerhaltig. Nr. 2 überlebte 3 Tage. Harn bis zum Tode zuckerhaltig (5. V. 35 ccm, 6. V. 16 ccm, 7. V. 14 ccm). Nr. 3 starb am folgenden Tage (5. V. 15 ccm Harn, 6. V. 21 ccm, beide stark zuckerhaltig). Nr. 1 starb am folgenden Morgen (22. I. 34 ccm Harn, viel Zucker).

---

[1]) Stenström, diese Zeitschr. 49, 225, 1913.

Tabelle III.

Versuch Nr. . . .		1		2		3	
Urethan pro kg . .		1,6 g		1,8 g		1,8 g	
Präf. Blutzucker . .		0,13 %		0,12 %	5 ccm P.	0,10 %	5 ccm P.
1 Std.	nach Urethanzufuhr	0,13	5 ccm P.[1]	0,12		0,14	
2 „		0,16		0,14	5 ccm P.	0,15	5 ccm P.
3 „		0,19		0,17		0,16	
4 „		0,24		0,27		0,19	
6 „		0,28		0,26		0,18	
8 „		0,31		0,28		0,22	
10 „		0,32		0,28		0,21	
11 „		0,39		0,25		0,21	
13 „		—		0,23		0,21	
24 „		0,39 †		0,15		0,15	
29 „		—		0,17		0,16	
33 „		—		0,18		0,16 †	
36 „		—		0,17		—	

Die drei Versuche zeigen, daß Pituitrin jedenfalls keine Hemmung der Hyperglykämie bzw. Glucosurie ausgeübt hat. Dagegen ist die Zuckermobilisierung besonders in Versuch 1 derartig groß, daß man vielleicht denken könnte, daß das Pituitrin umgekehrt eine die Hyperglykämie fördernde Wirkung ausgeübt hat. Hierzu ist jedoch zu bemerken, daß Nr. 8, 28 und 29 der Tabelle I nach Urethan allein ebenso intensive Zuckermobilisierung zeigen. Doch ist die Urethanquantität (1,6 g pro Kilogramm, Versuch 1) geringer als die entsprechende hyperglykämische Wirkung bei dem wohlernährten Tiere. Andererseits ist zu bemerken, daß das Tier schwer angegriffen wurde, indem es am folgenden Tage starb. Inwieweit dies durch den Umstand bewirkt wurde, daß dieses Versuchstier nicht vor Abkühlung geschützt wurde, während die Tiere sonst mittels Handtüchern davor einigermaßen geschützt wurden, lasse ich dahingestellt. Daß der Temperatursturz aber an sich nicht die Ursache der Blutzuckersteigerung sein kann, wurde in zahlreichen Versuchen bestätigt. Die Ergebnisse stimmten mit den in der vorhergehenden Abhandlung besprochenen überein. Es genügt demzufolge, auf diese hinzuweisen. Andererseits ist daran zu erinnern, daß die Tiere von großen Pituitrindosen vorübergehend recht stark beeinflußt wurden.

Daß aber das Pituitrin tatsächlich keine direkt fördernde

[1]) P. = Pituitrin.

Wirkung der Hyperglykämie ausübt, wurde durch die folgenden Versuche festgestellt, in denen das Urethan an sich wenig wirksam war. Die Tiere überstanden sämtliche Versuche sehr gut. Am folgenden Tage fraßen sie das Futter mit Gier.

Tabelle IV.

Datum		23. I.	26. I.	23. I.	26. I.
Versuch Nr. . . .		1a	1b	2a	2b
Urethan pro kg . .		1,7 g	1,7 g	1,7 g	1,6 g
Präf. Blutzucker . .		0,12 %	0,12 %	0,10 %	0,07 %
1 Std.		0,13	0,14 5 ccm P.	0,10 5 ccm P.	0,08
2 "		0,16	0,18	0,11	0,08
3 "		0,18	0,17	0,11	0,09
5 "	nach Urethanzufuhr	0,15	0,17	0,12	0,10
7 "		0,15	0,18	0,12	0,11
9 "		0,13	0,17	0,10	0,12
11 "		0,12	0,14	0,09	0,11
24 "		0,15	0,12	0,10	0,15

Wo die Tiere nicht schwer angegriffen werden, bewirkt das Pituitrin an sich keine Blutzuckersteigerung. Pituitrin ist also in solchen Dosen indifferent, die bei einer Adrenalinhyperglykämie mit bedeutend größeren Steigerungen des Blutzuckergehaltes dieselbe komplett zu unterdrücken vermögen. Hieraus kann man folgern, daß die Urethanhyperglykämie einen davon verschiedenen Mechanismus besitzen muß.

In der vorhergehenden Abhandlung ist der Wahrscheinlichkeitsbeweis dafür geliefert, daß die Blutzuckersteigerung nach Diuretin und großen Urethanquantitäten einer Urethan- und nicht einer Diuretinhyperglykämie entspricht. Wenn wir oben erwiesen haben, daß die Urethanhyperglykämie vom Pituitrin nicht beeinflußt wird, während dies bei der Diuretinhyperglykämie der Fall ist, kann selbstverständlich das Pituitrin die endgültige Entscheidung hierüber bringen. Die folgende Tabelle kann hierüber unterrichten. Beide Versuche sind an demselben Kaninchen angestellt worden.

Im ersten Versuche wurde das Diuretin 1 Stunde, im zweiten 2 Stunden nach der Urethanzufuhr injiziert. Der Versuch hat das erwartete Resultat geliefert, daß die Hyperglykämie nur indirekt durch Diuretin beeinflußt wird, indem das Coffein die Widerstandsfähigkeit des Tieres herabsetzt.

Tabelle V.

Datum		14. III.	23. IV.
Urethan pro kg + 1 g Diuretin		1,5 g	1,5 g
Präf. Blutzucker . .		0,13%	0,10% 10 ccm P.
1 Std.	nach Urethan-zufuhr	0,14	0,13
2 "		0,17	0,17
3 "		0,20	0,30
4 "		—	0,32
5 "		0,23	0,34 †
7 "		0,15	—
9 "		0,11	—

Nachdem es sich erwiesen hat, daß die Urethanhyperglykämie einen von den gewöhnlichen Hyperglykämieformen verschiedenen Mechanismus besitzen muß, fragt es sich zunächst, wie dieselbe zu erklären sei. Untersuchungen von Oppermann[1]) und Pawel[2]) über den Kohlenhydratstoffwechsel während der Narkose sollen angeblich hierüber Klarheit gebracht haben. Zuerst hat besonders Oppermann für viele Narkotica die Hyperglykämie näher studiert. Außerdem hat er durch eine geringe Dosis von Alkohol, Veronal und Trional eine Hypoglykämie erwiesen, was Pawel auch für Paraldehyd fand. Beide Verfasser arbeiteten mit Hunden als Versuchsobjekt. Wie ersichtlich, findet man auch bei Kaninchen nach geringen Urethandosen bisweilen eine vorübergehende Hypoglykämie.

Nach diesen Verfassern ist die Hyperglykämie als „das Zeichen der eingetretenen direkten Hemmung der Oxydation“ durch die Narkotica zu betrachten. Die Verfasser — und besonders Pawel — sehen als bewiesen an, daß die lebende Substanz während der Narkose keinen (?) Sauerstoff aufnimmt, infolgedessen wird der Blutzucker nicht verbrannt und wird teils im Blute aufgehäuft, teils durch die Nieren ausgeschieden, wenn ich die Verf. richtig verstanden habe. Nun ist es aber eben nicht bewiesen, daß die Narkose auf einer solchen Oxydationshemmung beruht. Gerade Winterstein, den Pawel als Stütze für diese Auffassung anführt, hat in überzeugender Weise die entgegengesetzte Auffassung bewiesen[3]). Die

[1]) Oppermann, Deutsche Zeitschr. f. Nervenheilk. **47/48**, 590, 1913.
[2]) Diese Zeitschr. **60**, 352, 1914.
[3]) Winterstein, diese Zeitschr. **51**, 143, 1913.

Oxydationshemmung wäre demzufolge nur eine „Teilerscheinung der Narkose“. Daß eine verminderte Verbrennung auch tatsächlich in tiefer Narkose vorkommen muß, lehrt schon die Tatsache, daß die paralysierte Muskulatur ihren Tonus verliert und folglich keine Energie, d. h. keinen Zucker verbraucht. Nun ist aber festgestellt worden, daß die Blutzuckerbildung fein reguliert wird: beim Mehrverbrauch wird entsprechend mehr Zucker gebildet, wie besonders die Phlorizinvergiftung sehr überzeugend dargetan hat. Man darf also folgern, daß bei beschränktem Verbrauch die Zuckerbildung entsprechend herabgesetzt wird, wofür auch viele andere Tatsachen sprechen. Wenn also bei tiefer Narkose trotzdem überschüssiger Zucker gebildet wird, ist die Regulation der Zuckerbildung gestört, ebenso wie nach den auf Adrenalinämie beruhenden Formen.

Die Regulation der Zuckerbildung läßt sich also sowohl durch Adrenalin wie in anderer Weise unabhängig davon erreichen. Hierbei hat man an meine Beobachtung zu denken, daß die überlebende Froschleber bei Einwirkung von Narkotica durch Änderung ihrer Lipoidverbindungen übermäßige Zuckerbildung zeigt[1]). Die Narkotica können also durch direkte Einwirkung auf die Leber eine Hyperglykämie bewirken. Oppermann (l. c.) hat auch versucht, durch besondere darauf eingerichtete Versuche diese Möglichkeit für die hyperglykämische Wirkung der Allgemeinnarkose warmblütiger Tiere wahrscheinlich zu machen. Er ging davon aus, daß, wenn Adrenalin die maximale Zuckerbildung bewirkt hatte, ein Narkoticum unwirksam sein mußte und umgekehrt. Seine Beweisführung ist aber nicht überzeugend. In einem Versuch bekam der Hund 10 mg Adrenalin, und 1 Stunde nachher, wenn der Blutzuckergehalt auf 0,37 $^0/_0$ gestiegen war, Morphin. Der Blutzucker stieg dann fortwährend bis 0,5 $^0/_0$. Oppermann hat aber nicht bewiesen, daß die Adrenalinwirkung nach 1 Stunde ihren Gipfel erreicht hatte. Vielleicht dauerte sie länger. Derselbe Einwand läßt sich gegen den Morphin-Adrenalin-Versuch anführen. Selbst aber die Richtigkeit der Folgerung Oppermanns zugegeben, warum könnte das Morphin nicht nach der Adrenalinwirkung sich geltend machen? Jedenfalls müßte

[1]) Bang, diese Zeitschr. 49, 40, 1913.

Oppermann zu erst gezeigt haben, daß die zuckerbildende Fähigkeit der Leber erschöpft war, ein solcher Beweis nach der Adrenalinwirkung dürfte aber nicht leicht zu liefern sein.

Hiermit will ich nicht die Möglichkeit in Abrede gestellt haben, daß das Urethan direkt durch Einwirkung auf die Leber die Zuckerbildung bewirken kann. Doch scheint mir diese Möglichkeit in casu fernerliegend, indem der Umstand dagegen spricht, daß das Urethan auch bei Hungertieren mit nur Spuren von Leberglykogen eine beträchtliche Hyperglykämie und Glucosurie verursacht. Zwar habe ich in meinen Versuchen mit Froschlebern nicht den Glykogenumsatz, sondern die Zuckerbildung bestimmt. Doch war in Versuchen, wo die Leber glykogenfrei war, auch diese Zuckerbildung eine minimale. Ich glaube also folgern zu können, daß das Leberglykogen in erster Linie für diese Zuckerbildung verantwortlich sein muß.

Dementsprechend glaube ich auch, da das Urethan auch beim Glykogenmangel wirksam ist, daß man sich nach anderen Möglichkeiten umsehen muß. Hierbei hat man folgende Tatsachen zu berücksichtigen: 1. Die Überproduktion von Zucker nach Urethannarkose muß von einer fehlerhaften Regulation der Zuckerbildung bedingt sein. 2. Die Hyperglykämie tritt nur dann ein, wenn die Tiere schwer von Urethan angegriffen sind. 3. Die Steigerung des Blutzuckers tritt spät ein, oft erst am folgenden Tage, wenn die Narkose schon vorüber ist. 4. Wenn diese spät auftretende Hyperglykämie einsetzt, sind die Versuchstiere sehr heruntergekommen. Haben die Tiere am folgenden Tage sich erholt, bleibt die Hyperglykämie immer aus.

Hieraus kann man folgern, daß die Urethannarkose gewisse sekundäre Änderungen des Organismus bewirkt haben muß, die ihrerseits die Regulationsstörung veranlassen.

Welches sind dann die Änderungen des Organismus nach einer schweren Narkose? Die Degeneration der Organe. Und welche Organdegenerationen können eine Regulationsstörung bewirken (Degeneration der Nebenniere kommt nicht in Betracht)? Degeneration der Leber. Die Änderungen der Lipoidverbindungen der Leber, die von mir in der Froschleber erwiesen worden sind, sind eben Lipoiddegenerationen. Diese Lipoiddegeneration kommt aber hier nur als eine recht un-

wahrscheinliche Möglichkeit in Betracht. Nun kann man aber davon ausgehen, daß nach einer intensiven Narkose sämtliche Organe mehr oder weniger stark beeinflußt werden. Folglich können wir mit größter Wahrscheinlichkeit folgern, daß dies auch mit dem Pankreas der Fall sein wird. Und eben eine Degeneration des Pankreas kann sehr wohl eine Regulationsstörung der tierischen Zuckerbildung bewirken. Aus den schönen Untersuchungen Hedons wissen wir, wie außerordentlich zersetzlich das Pankreashormon sein muß. Es ist also gut verständlich, daß eine Pankreasverfettung für dies Hormon schädlich sein kann oder auch für seine Bildung. Da der Pankreasdiabetes sozusagen augenblicklich nach der Exstirpation einsetzt, muß das Hormon so gut wie unaufhörlich neugebildet werden. Kann das fettdegenerierte Pankreas diese Bildung nicht bewirken, muß Hyperglykämie eintreten, aber auch dann aufhören, wenn das Pankreas sich erholt hat.

Sämtliche bei der Urethanhyperglykämie nachgewiesene Erscheinungen sprechen für diese Möglichkeit.

1. Das späte Auftreten und die mäßige Höhe der Hyperglykämie. Der Blutzuckergehalt bewegt sich beim Pankreasdiabetes zwischen denselben Werten (0,2 bis 0,25 $^0/_0$) für Blutzucker, kann aber oft auf beträchtliche Höhen steigen — ebenso wie bei Urethanhyperglykämie.

2. Die Hyperglykämie ist von dem Leberglykogen unabhängig. Eiweiß bildet wahrscheinlich die Muttersubstanz des Zuckers, ebenso wie bei Urethanhyperglykämie.

3. Die Hyperglykämie wird nicht vom Pituitrin beeinflußt — dasselbe ist nach unveröffentlichten Versuchen Stenströms aus dem hiesigem Institut ebenfalls mit Pankreasdiabetes der Fall.

4. Die Hyperglykämie ist von einer Acetonurie begleitet. Diese ist konstant bei der Urethanhyperglykämie gefunden.

5. Die Glucosurie tritt schon bei so geringer Hyperglykämie ein, die nach Adrenalin keine Glucosurie bewirkt. Man kann reichlicher Zuckerausscheidung bei recht unbedeutender Hyperglykämie begegnen (vgl. Versuch 20, Tabelle I mit 0,17 $^0/_0$ Blutzucker und 1 $^0/_0$ Harnzucker). Dies trifft auch für den Pankreasdiabetes zu.

Sprechen diese Tatsachen für die angeführte Möglichkeit, so darf man andererseits nicht vergessen, daß sie auch für eine Übereinstimmung mit den schweren Formen des genuinen Diabetes sprechen können. Es ist aber fraglich, ob nicht auch dieser einen Pankreasdiabetes darstellt.

Jedenfalls dürften die angeführten Tatsachen dazu berechtigen, die Arbeitshypothese aufzustellen, daß die Urethan- und damit die meisten Narkotica-Hyperglykämien auf dem Sistieren der Hormonsekretion des Pankreas beruhen können. Die fortgesetzte Forschung mag dann darüber entscheiden, inwieweit diese Folgerung zutreffend ist oder nicht.

Über das Fibrin und seine Beziehung zu einigen Fragen der Biologie und Kolloidchemie.

Mit besonderer Berücksichtigung des Blutgerinnungsproblems.

Von

E. Hekma.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 6. Juni 1914.)

V.

Über Gelbildung in flüssig erhaltenem Plasma und Transsudaten unter Salzeinfluß, sowie über die Reversibilität dieser Gele, bzw. die Eigenschaften ihrer Sole, an der Hand von Versuchsbeispielen.

1. 600 ccm Pferdeblut wurden aufgefangen in 200 ccm einer 1°/₀igen Kaliumoxalatlösung[1]). Das Blut-Oxalatgemisch wurde dann während $^1/_2$ Stunde zentrifugiert, was sich als ungenügend erwies. Indem dann weiter noch während $1^1/_2$ Stunden zentrifugiert wurde, stand über den Formelementen ein klares, jedoch rotgefärbtes Plasma. Trotz des 2stündigen Zentrifugierens waren übrigens in dem Plasma noch Blutplättchen und vereinzelte Lymphocyten vorhanden. Das abpipettierte Plasma blieb an einem kühlen Ort (nicht im Eisschrank) während 24 Stunden stehen, sodann wurde es mit einem gleichen Teile einer gesättigten Kochsalzlösung[2]) versetzt. Fast sofort Trübung,

---

[1]) Es wurden, wie in diesem Versuche, anfangs 3 Teile Blut aufgefangen in 1 Teil einer 1°/₀igen Kaliumoxalatlösung. Es stellte sich dabei heraus, daß in einem solchen Blut-Oxalatgemisch öfters Hämolyse eintrat. Um diesem Vorkommnis vorzubeugen, habe ich dann später, einem freundlichen Rat des Herrn Prof. Pekelharing in Utrecht gemäß, durchweg 9 Teile Blut aufgefangen in 1 Teil einer 10°/₀igen Kaliumoxalatlösung.

[2]) Das in diesen Versuchen verwendete Kochsalz war ganz rein NaCl Kahlbaum).

die sich nach einigen Minuten zu einem grobflockigen Präcipitat verstärkte[1]). Es wurde nun während 5 Minuten zentrifugiert. Auf dem Boden der Zentrifugenröhren fand sich eine voluminöse, gallertig aussehende, zusammenhängende Masse, an den Wänden hatten sich Flocken abgesetzt, während an der Flüssigkeitsoberfläche eine einigermaßen zusammenhängende Flockenmasse vorhanden war. In 2 von den 6 Zentrifugenröhren erstreckten sich außerdem mehrere dickere und dünnere gallertig aussehende Faden zwischen der Oberflächen- und Bodenmasse. Die Flüssigkeiten wurden abgegossen, was bequem vor sich ging, indem die Oberflächenmassen mit einem Spatel gegen die Röhrenwand gedrückt wurden. Der Bodensatz blieb dabei an seiner Stelle, offenbar weil er einigermaßen an der Glaswand klebte, wie ja auch die einzelnen Flocken an den Wänden eben vermöge ihrer Klebrigkeit haften bleiben. Die Flüssigkeit wurde ersetzt durch eine 6 mal geringere Menge einer 4 %igen Kochsalzlösung. Die „Sedimente" ließen sich mittels Glasstabes ziemlich leicht in der Flüssigkeit verteilen, die vorhandenen Faden zerfielen dabei in Flocken. Das Gesamtmaterial wurde nun in ein Becherglas gebracht. Nach 15 Minuten hatte sich schon der größte Teil des „Sediments" gelöst, nach 30 Minuten war nur noch ein sehr kleiner Rest vorhanden. Nunmehr wurde filtriert und das Filtrat mit einer gleichen Menge gesättigter Kochsalzlösung versetzt. In einigen Minuten feinflockiges „Präcipitat". Als nunmehr mit einem Glasstabe vorsichtig gerührt wurde, verwandelte sich das „Präcipitat" in eine gallertig aussehende Faser-Häutemasse, die sich um den Stab wickelte. Das Gel, das klebrig war, wurde in 4 %ige Kochsalzlösung übertragen. Nach 15 Stunden (die Probe konnte

---

[1]) Es ist mir mehrmals aufgefallen, daß im Oxalatplasma, mit gesättigter NaCl-Lösung versetzt, rascher Trübung bzw. Niederschlag, bzw. Gelbildung eintrat, wenn das Plasma nach dem Abzentrifugieren z. B. 24 Stunden stehen geblieben war, als wenn es sofort in Angriff genommen wurde. Dasselbe ist der Fall mit Fluornatrium- und Citratkochsalzplasma: wird ein solches Plasma mehrere Stunden aufbewahrt, bevor es mit Kochsalz versetzt wird, so tritt auch hier bedeutend rascher (und zu gleicher Zeit ausgiebiger) Gelbildung ein als in dem möglichst frischen Plasma. Diese Tatsache ist offenbar dem Umstande zuzuschreiben, daß in dem aufbewahrten Plasma bereits ein noch nicht makroskopisch wahrnehmbarer Anfang einer „spontanen" Gelbildung stattgefunden hat.

äußerer Umstände wegen nicht sofort fortgesetzt werden) hatte sich nur ein Teil des Gels gelöst. Die Flüssigkeit wurde abgegossen und filtriert, zu dem Filtrat wurde gesättigtes NaCl zu gleichen Teilen hinzugesetzt. Sofort Trübung, Probe blieb stehen. Nach 2 Stunden fand sich am Boden sowie in der oberen Flüssigkeitsschicht eine Faden-Flockenmasse. Zwischen dieser erstreckten sich in der klaren Flüssigkeit zahlreiche gröbere und feinere weiße Fäden. Das Gesamterzeugnis erinnert an einen beschneiten Wald in Miniatur. Das Gel läßt sich diesmal nicht mit einem Glasstabe entfernen. Im Gegenteil brechen die Fäden beim Rühren, während die Flockenmasse ebenfalls auseinanderfällt. Um die feste Substanz zu sammeln, wurde während 5 Minuten zentrifugiert. Die feste Substanz hat sich in den Röhren fast ganz am Boden abgesetzt, nur eine sehr kleine Flockenmasse fand sich an der Flüssigkeitsoberfläche. Die Flüssigkeit wird abgegossen und ersetzt durch eine 6 mal geringere 4 $^0/_0$ige NaCl-Lösung. Beim nunmehrigen sanften Schütteln geht der Bodensatz in allen Röhren in der Form von Scheiben in der Flüssigkeit „schwimmen“. An den dünneren Rändern der Scheiben wurden Fäserchen beobachtet. Wenn nunmehr die Scheiben mit einem Glasstabe bearbeitet werden, zerfallen sie in Häutchen, Fäserchen und Flocken. Das Gesamtmaterial wird in ein Becherglas gegossen und sich selbst überlassen. Wider Erwarten stellte sich heraus, daß bereits nach 1 Stunde der größte Teil der Häutchen-Fäserchen-Flockenmasse sich gelöst hatte, nur von den derberen Häutchen sind noch manche, die allerdings etwas gallertig aussehen, vorhanden. Die Flüssigkeit wurde abgegossen und filtriert.

Zu dem Filtrat wurde (Rinder-)Serum hinzugesetzt, dann wurde das Gemisch während 18 Stunden sich selbst überlassen. Es fand sich nach dieser Zeit ein gallertig aussehendes, wenig ausgiebiges Gerinnsel in der Flüssigkeit vor, das mit einer Pinzette entfernt und in eine größere Menge Aq. dest. übertragen wurde: es stellt nunmehr eine zusammenhängende Haut bzw. Membran dar, an deren Rändern Fäserchen hervorragen. Die Haut wird aus dem Wasser in 0,01 $^0/_0$ige NaOH-Lösung übertragen, in der das Gerinnsel sich nach 3 Stunden nicht gelöst hatte. Wenn das Gel nunmehr mit einer Pinzette aus

der Flüssigkeit gehoben und in Aq. dest. kurz abgespült wurde, ergab sich merkwürdigerweise, daß blaues Lackmuspapier von dem Gerinnsel rot gefärbt wurde, daß also das Gerinnsel Lackmus gegenüber saure Reaktion zeigte.

2. 9 Teile Pferdeblut wurden aufgefangen in 1 Teil einer $10^0/_0$igen Kaliumoxalatlösung und während $1^1/_2$ Stunden zentrifugiert. Das abpipettierte Plasma wird sofort in Arbeit genommen und lege artis nach der Hammarstenschen Methode behandelt, d. h. also, daß nach der Hinzufügung einer gleichen Menge gesättigten Kochsalzlösung zentrifugiert wurde, während das erhaltene „Sediment“ bzw. Gel mittels $4^0/_0$iger NaCl-Lösung „zur Lösung“ gebracht wurde, während diese Prozeduren dann noch möglichst schnell 2 mal wiederholt wurden, mit der Maßgabe, daß in 3. Instanz anstatt $4^0/_0$iger NaCl-Lösung Aq. dest. verwendet wurde. Nachdem zum 3. Male gesättigte NaCl-Lösung zu der „Lösung“ hinzugefügt worden war, fand sich das „Sediment“ fast ganz auf dem Boden der Zentrifugenröhren. Die starke Salzlösung wurde nunmehr abgegossen und ersetzt durch eine 4 mal geringere Menge Aq. dest. Als die „Sedimente“ mit einem Glasstabe bearbeitet wurden, mit dem Zwecke, sie in dem Wasser zu verteilen, wickelte sich jedes Bodensediment in der Form einer etwas gallertig aussehenden Faser-Häutemasse um den Stab. Nichtsdestoweniger ließen sich die Massen schließlich zerkleinern, das Gesamtmaterial wurde in ein Becherglas zusammengegossen. Nach 1 Stunde war „Lösung“ eingetreten, allerdings mit Opalescenz. Zu dem Filtrat dieser „Lösung“ wurde nunmehr hinzugefügt: gesättigte Fluornatriumlösung zu gleichen Teilen. Fast sofort starke Trübung. Nach 5 minutigem Zentrifugieren fand sich das „Sediment“ auch nun wieder fast ausschließlich am Boden der Röhren[1]). Die „Sedimente“ bzw. Gele aus 2 der Zentrifugenröhren wurden in $0{,}02^0/_0$iger NaOH-Lösung übertragen, nach 15 Minuten war bereits vollständige Lösung eingetreten (Lösung A). Die Sedimente bzw. Gele aus den 2 anderen Zentrifugenröhren wurden in verdünntem Ammoniak (d. h. 1 Teil

[1]) Die schließliche Ausbeute an Material war angesichts der großen Menge der Ausgangsflüssigkeit nur eine verhältnismäßig geringe. Offenbar war sehr viel Material bei den Prozeduren verloren gegangen.

Amm. liq. auf 100 Teile Aq. dest.) übertragen, in der sie sich ziemlich schnell lösten (Lösung B).

Mit der filtrierten Lösung A und B wurden dann die untenstehenden Versuche angestellt.

a) Zu je 3 ccm der Lösung A und B wurde 1 ccm (Rinder-) Serum hinzugesetzt, wonach die Proben dann im Brutschrank bei 37° gestellt wurden. Nach 15 Minuten waren die Flüssigkeiten in beiden Proben trübe geworden. Als nunmehr vorsichtig geschüttelt wird, verwandeln sich die Trübungen sofort in Gerinnsel. Letztere lassen sich mit einer Pinzette entfernen und werden jede für sich in Aq. dest. gewaschen und sodann in 0,02 %ige NaOH-Lösung übertragen. Nach 2 Stunden war in beiden Proben Lösung eingetreten. Die Lösungen blieben bis zum nächsten Tage stehen und wurden dann filtriert. Nunmehr wurde zu den beiden Filtraten (Rinder-)Serum hinzugesetzt, mit dem Erfolge, daß nach einiger Zeit in beiden Proben bei Zimmertemperatur ein kleines Koagulum sich gebildet hatte.

b) Zu je 3 ccm der Lösungen A und B wurden je 3 ccm Rinderserum hinzugefügt, dann blieben die Proben während 18 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit fand sich in A ein kleines Häutchen am Boden, das nicht weiter verarbeitet wurde. In B fand sich ein kleines gallertig aussehendes Koagulum, das mit einer Pinzette in 0,02 %ige NaOH-Lösung übertragen wurde, in der es sich nach 6 Stunden, mit Opalescenz, gelöst hatte. Die filtrierte Lösung wurde mit Serum zu gleichen Teilen versetzt, die Probe blieb dann wieder bei Zimmertemperatur stehen. Nach 18 Stunden wurde die Anwesenheit eines kleinen Koagulums konstatiert. Es stellt sich heraus, daß blaues Lackmuspapier von dem Koagulum gerötet wird. Das Gel wurde in 0,025 %ige NaOH-Lösung übertragen, in der es sich nicht löste, auch nicht nach 24 Stunden!

c) Zu je 3 ccm der Lösungen A und B wurden je 3 ccm einer 8 %igen NaCl-Lösung und dann zu jeder Probe 6 ccm Rinderserum gefügt. Proben dann bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach 18 Stunden fand sich in A eine geringe Häutchen-Fasermasse auf dem Boden des Versuchsröhrchens. In B fand sich ein Koagulum vor. Letzteres Gerinnsel wurde in Aq. dest. übertragen. Es stellte nunmehr eine

kleine weiße Häutchen-Fasermasse dar, die in 0,02 %ige NaOH-Lösung übertragen wurde. Nach 2 Stunden war Lösung eingetreten. Diese Lösung wurde mit Rinderserum zu gleichen Teilen versetzt. Nach 18 Stunden aufs neue gallertig aussehendes Koagulum, das, in Aq. dest. kurz gewaschen und in 0,025 %ige NaOH-Lösung übertragen, sich nicht löste, auch nicht nach 24 Stunden.

3. Rinderblut (9 Teile) + 10 %ige Kaliumoxalatlösung (1 Teil) wurde während 1½ Stunden zentrifugiert. Das abpipettierte Plasma blieb bei Zimmertemperatur (im Monat August) während 18 Stunden stehen. Nach dieser Zeit fand sich am Boden der Flüssigkeit ein gallertig ausgehendes Gerinnsel[1]). Das Gel wurde in Aq. dest. übertragen und geschüttelt, wobei sich das Spülwasser trübte, in ganz ähnlicher Weise, wie man es bei dem im NaF-Plasma sich bildenden „spontanen" Gele beobachtet. — Das Gerinnsel stellte nach der Wasserwaschung eine weiße Fasermasse dar. Die Fasermasse blieb dann noch während 3 Stunden in dem Wasser stehen, sie blieb dabei ganz unverändert. Dann wurde die Fasermasse in 4 %ige Kochsalzlösung übertragen. Nach 48 Stunden (Zimmertemp.) war das Gerinnsel noch ganz unverändert vorhanden, eine Lösung hatte also gar nicht stattgefunden[2]).

---

[1]) Aus diesem Versuche geht hervor, daß auch in Oxalatplasma „spontane" Gerinnung eintreten kann. Ich habe solche Beobachtungen am Oxalatplasma (namentlich von Rinderblut) mehrmals gemacht, jedoch nur wenn das Plasma bei Zimmertemperatur stehen geblieben war. In den Fällen, wo das Oxalatplasma an einem kühlen Ort aufbewahrt worden war, habe ich eine solche „spontane" Gelbildung nicht wahrgenommen. Es ist in dieser Hinsicht eine gewisse Übereinstimmung vorhanden mit dem Verhalten des Fluornatriumplasmas. Auch im NaF-Plasma bekommt man eben „spontane" Gelbildung bei Zimmertemperatur. Wird letzteres Plasma jedoch an einen kühlen Ort gestellt, so beobachtet man nach 24 Stunden höchstens die Anwesenheit einiger gallertig aussehender großen „Flocken". Ich kann noch hinzufügen, daß die „spontane" Gelbildung im NaF-Plasma, wenn das Plasma, nachdem es während 24 Stunden in der Kälte aufbewahrt worden ist und dann bei Zimmertemperatur gestellt wird, in der Regel eine bedeutend weniger ausgiebige ist, als wenn es von vornherein bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen wird.

[2]) Auch in dieser Hinsicht stimmte dieser Faserstoff mit dem im Fluornatriumplasma „spontan" entstehenden Gele überein. Ich habe nämlich bis jetzt versäumt auf den Umstand hinzuweisen, daß der „spon-

Das Plasma wurde nach der Entfernung des Gerinnsels filtriert und sodann mit einer gleichen Menge gesättigter NaCl-Lösung (NaCl Kahlbaum) versetzt. Es entstand fast sofort eine Trübung, nach einigen Minuten war ein grobflockiges Präcipität vorhanden. Nun wurde während 10 Minuten zentrifugiert. In jeder der Zentrifugenröhren (8 Röhren à 100 ccm) fand sich an der Flüssigkeitsoberfläche und am Boden nunmehr eine „Haut". Die Oberflächenhäute wurden mit einer Pinzette entfernt. Nachdem dann die Flüssigkeit abgegossen worden war, wurden die Bodenhäute ebenfalls entfernt. Sämtliches Material wurde in 5%ige NaCl-Lösung übertragen. Beim Rühren mit einem Glasstabe zerfielen die groben Häute in kleinere Häutchen und Fäserchen. Nach einiger Zeit fingen die Häutchen und Fäserchen an zu quellen, indem sie zu gleicher Zeit mehr oder weniger durchsichtig und klebrig wurden. Nach 2 Stunden hatten sich die Fäserchen gelöst, von den Häutchen waren noch zahlreiche vorhanden. Das Material blieb dann noch weiter stehen, nach 18 Stunden waren nur noch spärliche Reste ungelöst. Nunmehr wurde filtriert und das Filtrat mit einer gleichen Menge gesättigter Kochsalzlösung versetzt. Erst nach einigen Minuten trat leichte Trübung ein, nach 10 Minuten fand sich ein feinflockiger Niederschlag vor. Es wurde nunmehr folgendermaßen vorgegangen.

a) Ein Teil der Suspension wurde weiter ruhig sich selbst bei Zimmertemperatur überlassen. Nach 18 Stunden hatte sich ein „Wald" von grob aussehenden Faden ausgebildet. Bei der mikroskopischen Untersuchung eines Teils eines solchen Fadens bekam ich zunächst den Eindruck, als ob zahlreiche Einzelkörner, teilweise unmittelbar, teilweise in kurzen Abständen, in

---

tan" in Fluornatriumplasma sich bildende und in Aq. dest. tüchtig gewaschene Faserstoff sich nicht nur nicht in Wasser, sondern ebensowenig in verdünnter Kochsalzlösung bei Zimmertemperatur löst. Auch bei 37° bleibt der Faserstoff in 8%iger NaCl-Lösung ganz unverändert. In 4%iger NaCl-Lösung fängt der Faserstoff bei 37° nach mehreren Tagen in der Regel an zu verschwinden. In 0,9%iger NaCl-Lösung und in Wasser ist der Faserstoff für gewöhnlich bei 37° nach 2 Tagen verschwunden, falls nicht unter sterilen Verhältnissen experimentiert wird. Es handelt sich hier offenbar um eine bacterielle Zerlegung der Faserstoffe, der von der 4%igen NaCl-Lösung verzögert und von einer 8%igen NaCl-Lösung ganz vorgebeugt wird.

der Längsrichtung aneinander gereiht waren. Auch bekam man hier und da feine „Zylinder“ zu Gesicht. Als nun das Deckglas etwas fester angedrückt und zu gleicher Zeit verschoben wurde, während mit stärkerer Vergrößerung beobachtet wurde, stellte sich heraus, daß in dem Präparat ein feines Fädchennetzwerk vorhanden war und daß die soeben genannten Körner tatsächlich nicht untereinander zusammenhingen, sondern daß sie auf und zwischen den zarten Fädchenbündeln, bzw. Netzen, sich fanden. Auch in den „Zylindern“ ließ sich mit einiger Mühe ein ebensolches Fädchennetzwerk nachweisen. Den groben Fäden lag also ein Gerüst feiner Fädchen zugrunde, das von Eiweißstoffen in amorpher Form verdeckt wurde. Offenbar sahen die Fäden deshalb grob und rauh aus, weil die Menge des in amorpher Form vorhandenen Eiweißstoffes eine sehr bedeutende war.

Weil die Fäden bei einem Versuch, sie mit der Pinzette zu entfernen, zerbrachen, wurde die gesamte Gelmasse mittels kurzen Zentrifugierens gesammelt; die Flüssigkeit wurde dann ersetzt durch eine $5^0/_0$ige NaCl-Lösung, in der sich die Gelmasse nach 24 Stunden noch fast unverändert vorfand.

b) Der größte Teil der Suspension wurde sofort während 8 Minuten zentrifugiert. Die Kolloidmasse fand sich teilweise in der Form von Häuten auf dem Boden der Röhren, teilweise in der Form von Flocken an den Wänden. Die Flüssigkeit wurde abgegossen und ersetzt durch eine $5^0/_0$ige Kochsalzlösung. Das Gesamtmaterial wurde dann in ein Becherglas gegossen. Beim Rühren mit einem Glasstabe zerfielen die Häute in kleinere Häutchen, Fäserchen und Flocken. Nach 3 Stunden hatten sich die Flocken und Fäserchen gelöst, von den Häutchen waren noch mehrere vorhanden. Es wurde nun filtriert. Zu dem klaren (opalescierenden) Filtrat wurde eine gleiche Menge gesättigte NaCl-Lösung hinzugefügt. Es entstand dabei eine leichte Trübung. Nachdem 15 Minuten zentrifugiert worden war, fand sich nur ein spärlicher Beschlag auf dem Boden und den Wänden der Röhren. Die Flüssigkeit wird ersetzt durch eine $5^0/_0$ige NaCl-Lösung. Nach 24 Stunden lag eine leicht trübe Flüssigkeit vor, die filtriert wurde. Das Filtrat war klar. Als nunmehr zu diesem Filtrat Serum hinzugefügt wurde, trat keine Gelbildung ein, auch nicht nach 24 Stunden.

4. 9 Teile Rinderblut wurden aufgefangen in 1 Teil einer 10%igen Kaliumoxalatlösung. Das nach dem Zentrifugieren abpipettierte Plasma wurde sofort mit einer gleichen Menge gesättigter Kochsalzlösung versetzt. Es trat dabei anfangs keine Trübung ein, nur wurde in den oberflächlichen Flüssigkeitsschichten eine „Wellenbewegung“ beobachtet, als Ausdruck davon, daß etwas in der Flüssigkeit vorging. Als dann nach mehreren Minuten die ersten Spuren einer Trübung sichtbar wurden, wurde sofort zentrifugiert mit dem Resultat, daß nur ein spärliches „Sediment“ erhalten wurde. Die Flüssigkeit wurde abgegossen, während sie mit noch $^1/_8$ Volumen gesättigter NaCl-Lösung versetzt und sodann sich selbst in einem Becherglase überlassen wurde. Nach 24 Stunden fand sich eine zähe, fadenziehende häutige Masse am Boden des Gefäßes, während an der Wand Flocken vorhanden waren. Die Flüssigkeit wurde abgegossen[1]) und abermals mit $^1/_8$ Volumen gesättigter NaCl-Lösung versetzt. Bald Trübung. Nach 2 Stunden: Flocken und etwas gallertig aussehende Fäden, die beim Rühren mit einem Glasstabe in feine Flocken zerfallen. Nach 10 minutigem Zentrifugieren war ein gallertig aussehendes „Sediment“ am Boden der Röhren vorhanden. Die Flüssigkeit wurde entfernt und ersetzt durch eine viermal geringere Menge einer 4%igen NaCl-Lösung, während das „Sediment“ in der Flüssigkeit mit einem Glasstabe verteilt wurde. Nach 3 Stunden hatte sich das Sediment fast ganz gelöst, die Flüssigkeit war jedoch leicht trübe. Nichtsdestoweniger wurde ein klares Filtrat (mit blauem Schimmer) erhalten, zu dem ein gleicher Teil gesättigte NaCl-Lösung hinzugefügt wurde. Geringe Trübung. Nunmehr wurde noch $^1/_8$ Volumen gesättigte NaCl-Lösung hinzugesetzt mit dem Erfolge, daß die Trübung sich bedeutend verstärkte. Die Suspension wurde nun in zwei Hälften geteilt (a und b).

a) Die eine Hälfte der Suspension wurde zentrifugiert. Nach 10 Minuten Sediment, das sich fast ganz am Boden der Röhren fand. Flüssigkeit abgegossen und ersetzt durch Aq. dest. Nach 2 Stunden Lösung mit Ausnahme eines kleinen Restes. Zu dem Filtrat hinzugefügt: gesättigte NaCl-Lösung zu gleichen Teilen. Trübung. Nach 10 minutigem Zentrifugieren spärliche

---

1) Zu der Häute-Flockenmasse wurde 4%ige NaCl-Lösung hinzugesetzt; nach 24 Stunden hatte sich die Masse noch nicht gelöst.

Sedimente am Boden. Flüssigkeit abgegossen und ersetzt durch 0,1 %iges Ammoniak. Schnelle Lösung mit Opalescenz. Zu dem Filtrat: Rinderserum zu gleichen Teilen. Probe im Brutschrank bei 37°. Nach 15 Minuten anscheinend starke Trübung, beim Schütteln des Röhrchens wird ein gallertig aussehendes Gerinnsel sichtbar. Das Gerinnsel wird in Aq. dest. gewaschen und dann in 0,1 %igen Ammoniak übertragen, in dem es sich sonderbarerweise auch nach 24 Stunden nicht gelöst hatte.

b) Die zweite Hälfte der Suspension wurde in einem Becherglase sich selbst überlassen. Nach 18 Stunden auf dem Boden der Gefäße eine dünne Membran, an der Flüssigkeitsoberfläche Flocken. Zwischen dem Bodensatz und der Oberfläche erstrecken sich zahlreiche zarte und außerdem vereinzelt dickere, längere Faden. Als nun vorsichtig mit einem Glasstabe gerührt wurde, zerfielen die Fäden nicht, sondern das ganze Gel wickelte sich um den Stab herum. Das Gel wurde in 4 %ige NaCl-Lösung übertragen (es klebte dermaßen an dem Stabe, daß es mit einem Zusatzstabe abgeschabt werden mußte), in der es sich nach 3 Stunden nur teilweise gelöst hatte. Als dann ein gleicher Teil 0,1 %iges Ammoniak hinzugefügt wurde (so daß also 0,05 % Ammoniak in dem Gemisch vorhanden war), trat schnelle Lösung, mit Opalescenz, ein.

Letztere ammoniakale Lösung wurde mit einem gleichen Teile einer gesättigten Fluornatriumlösung versetzt. Sofort Trübung. Zentrifugiert. „Sediment" in 0,25 %iger NaOH-Lösung. Lösung mit Opalescenz. Zu dem Filtrat letzterer Lösung: Rinderserum (1 Teil Serum auf 3 Teile des Filtrats). Nach 24 Stunden: Kuchen; auf der Oberfläche des Kuchens ist etwas (ausgepreßte?) Flüssigkeit vorhanden. Indem tüchtig geschüttelt wurde, zerfiel der Kuchen in gallertig aussehende Häutchen und Fäserchen, während Flüssigkeit austrat. Die Häute und Fäserchen wurden mit einer Pinzette aus der Flüssigkeit gefischt und ohne Nachwaschung in 0,025 %ige NaOH-Lösung übertragen. Nach 24 Stunden war keine Lösung eingetreten. Beim Hinzufügen einiger Tropfen einer 1 %igen NaOH-Lösung trat in kurzem völlige Lösung ein. Filtrat klar. Filtrat in 2 Teile geteilt. Zu dem einen Teil: Serum. Keine Gelbildung. Zu dem zweiten Teil: 5 %ige NaH_2PO_3-Lösung bis um den neutralen Punkt herum. In kurzer Zeit Fädchengerinnsel.

5. Zu Pferdeblutoxalatplasma wurde in einem Reagensglase ein gleicher Teil gesättigte Kochsalzlösung und in einem andern ein gleicher Teil gesättigte Fluornatriumlösung hinzugesetzt; dann blieben die Proben bei Zimmertemperatur stehen. Nach 24 Stunden war die Flüssigkeit in den beiden Rohren anscheinend gleichmäßig geronnen, die Röhrchen konnten auf den Kopf gestellt werden, ohne daß mehr als ein paar Tropfen Flüssigkeit austropften. Beim Schütteln zerfiel der unter NaCl-Einfluß gebildete Kuchen in gröbere Flocken, während aus dem unter NaF-Einfluß erhaltenen Kuchen Häute und Fäserchen entstanden, unter Freiwerden der Flüssigkeiten.

6. Pferdeblut (3 Teile) aufgefangen in gesättigter $MgSO_4$-Lösung (1 Teil). Das durch Zentrifugieren erhaltene Plasma wird mit einer gleichen Menge einer gesättigten Kochsalzlösung versetzt. In Bälde grobflockiges Präcipitat.

α) Ein Teil der Flocken-Flüssigkeitsmasse wurde in einem Becherglase bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach 24 Stunden fanden sich große gallertig aussehende Flocken vor, die untereinander durch dünnere und dickere gallertig aussehende Fäden verbunden waren.

β) Der größere Teil der Flocken-Flüssigkeitsmasse wurde während 10 Minuten zentrifugiert. Flüssigkeit abgegossen und ersetzt durch eine sechsmal geringere Menge Aq. dest., in der das mit dem Glasstabe in Flocken verteilte Gel sich, einigermaßen zu meiner Verwunderung, in einigen Minuten glatt löst (Lösung A). Mit dieser Lösung wurde wie folgt experimentiert.

a) Zu 10 ccm der Lösung A wurden 2 ccm Rinderserum hinzugesetzt. Probe im Brutschrank bei 37°. Nach 15 Minuten Koagulum, das, ausgewaschen in Aq. dest., eine weiße Faserstoffmasse darstellt. Die Faserstoffmasse wurde in 0,02 %ige NaOH-Lösung übertragen. Nach 1 Stunde Lösung. Zu dem Filtrat letzterer Lösung: Rinderserum. Koagulum.

b) Zu 10 ccm der Lösung A hinzugefügt: 4 ccm Rinderserum. Probe bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach 24 Stunden: Kuchen.

c) Zu 5 ccm der Lösung A hinzugesetzt: 5 ccm einer gesättigten Fluornatriumlösung. Nach 1 Stunde schönes Fädchenwerk, nach 24 Stunden Kuchen.

d) Zu 5 ccm der Lösung A hinzugesetzt: 3 ccm HCl 1,126 D. Sofort starkes Präcipitat, nach einiger Zeit Kuchen.

e) 35 ccm der Lösung A wurden mit 35 ccm gesättigter NaCl-Lösung versetzt. Sofort Trübung. Die Suspension wird zentrifugiert, nach 10 Minuten wird die Zentrifuge abgestellt. Am nächsten Tage fand sich am Boden des Zentrifugenrohres (das in der Zentrifuge gelassen worden war) eine Haut, während zahlreiche feine Fäden von dieser Haut ausgehend in die Flüssigkeit hinaufragten. Die meisten, namentlich die längeren Fäden, trugen an ihrem freien Ende ein Luftbläschen.

7. Pferdeblut, aufgefangen in einem gleichen Teile einer 1 $^0/_0$igen Fluornatriumlösung und dann zentrifugiert. Das abpipettierte Plasma wurde in einem nicht geheizten Zimmer (Mitte Februar) 24 Stunden aufbewahrt. Nach dieser Zeit erschien die Flüssigkeit bei makroskopischer Beobachtung unverändert. Auch in dem von der Flüssigkeit angefertigten Präparate wurden keine Fädchen wahrgenommen. Nichtsdestoweniger war offenbar doch schon eine gewisse Zustandsänderung eingetreten, denn die Präparate waren neblig (ultramikroskopisch wurde damals nicht untersucht). Mit diesem 24 Stunden aufbewahrten Plasma wurden die folgenden Versuche angestellt.

a) Zu 20 ccm des Plasmas hinzugesetzt: 20 ccm gesättigte NaCl-Lösung. Sofort Präcipitat, das in kurzer Zeit grobflockig wurde. Nach 1 Stunde sich selbst überlassen, hatten sich die Flocken zu größeren Haufen zusammengeballt, zwischen den Haufen fanden sich hier und da Fäden. Als nunmehr stark geschüttelt wurde, zerfällt die Masse in feine Flöckchen und Fädchen.

b) Zu 20 ccm des Plasmas werden 20 ccm gesättigte Fluornatriumlösung hinzugefügt. Sofort starke Trübung. Nach 15 Minuten dichtmaschiges Fädchennetzwerk, das beim Schütteln in der Form eines Fädchenknäuelchens zur Flüssigkeitsoberfläche stieg. (Unterschied dem von NaCl gebildeten Gel gegenüber.)

c) Zu 20 ccm des Plasmas wurden abermals 20 ccm gesättigte Fluornatriumlösung hinzugesetzt, während die Probe diesmal ruhig sich selbst überlassen wurde. Nach 24 Stunden hatte sich die anfängliche Suspension in einen Kuchen verwandelt.

d) Zu 20 ccm des Plasmas wurden nochmals 20 ccm gesättigte Fluornatriumlösung hinzugefügt. Nach 10 Minuten

Fädchenwerk, das durch Schütteln sich zu einem nach der Oberfläche steigenden Fadenknäuelchen zusammenballte. Die Probe wurde in diesem Stadium weiter sich selbst überlassen. Am nächsten Tag: Kuchen. (Fraktionierte Gel- bzw. Gerinnselbildung unter Fluornatriumeinfluß!)

8. Rinderblut wurde in einem gleichen Teile einer $1\,^1/_2\,^0/_0$ igen NaF-Lösung aufgefangen und dann zentrifugiert. Das abpipettierte Plasma wurde dann bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Am nächsten Tag hatte sich ein „spontanes“ Gerinnsel gebildet, das entfernt wurde. Die filtrierte Flüssigkeit wurde abermals sich selbst überlassen, das am nächsten Tag gebildete Gerinnsel wurde wieder entfernt. Mit dem filtrierten Plasma wurden die folgenden Versuchen angestellt.

a) Zu 10 ccm des Plasmas wurden 10 ccm gesättigte NaCl-Lösung hinzugesetzt. Nach einigen Minuten wurde eine leichte Trübung sichtbar. Die Probe blieb ruhig stehen. Nach 25 Minuten lag eine anscheinend nur trübe Flüssigkeit vor. Als nun jedoch bei Seitenlicht (gegen Gasglühlicht) beobachtet wurde, stellte sich heraus, daß die Trübung tatsächlich von einem Fädchennetzwerk (Membranform) verursacht wurde. Beim Schütteln der Röhrchen ballte sich das Fädchenwerk nicht zu einem Fadenknäuelchen zusammen, sondern es zerfiel in gallertig aussehende Flocken.

b) Zu 10 ccm des Plasmas wurden 10 ccm gesättigte NaF-Lösung hinzugefügt. Innerhalb 5 Minuten wurde bei Seitenbeleuchtung (Gasglühlicht) die Anwesenheit eines Fädchenwerks (Membran- bzw. Ballonform) konstatiert. Beim Schütteln des Röhrchens verwandelte sich das Fädchenwerk in ein Knäuelchen, das nach der Oberfläche stieg. Die Probe blieb stehen. Am nächsten Tag war ein Kuchen gebildet, so daß das Röhrchen auf den Kopf gestellt werden konnte. Beim starken Schütteln zerfiel der Kuchen in gallertig aussehende Häutchen und Fäserchen, während Flüssigkeit austrat.

c) 500 ccm des Plasmas wurden regelrecht nach der Hammarstensschen Methode behandelt, d. h. also, es wurde durch 3malige Fällung mit gesättigter Kochsalzlösung und jedesmalige Lösung des ausflockenden Kolloids in verdünnter Kochsalzösung eine Kolloidlösung hergestellt (Hammarstens „Fibrinogen-

lösung"), während dann weiter gearbeitet wurde nach Analogie der Methode, die von Huiskamp[1]) angegeben worden ist. Nachdem nämlich das Kolloid zum dritten Male mit einem gleichen Teile gesättigter Kochsalzlösung zur Ausflockung gelangt war, wurde das mittels Zentrifugierens erhaltene Gel anstatt in 4%ige NaCl-Lösung in Aq. dest. übertragen. Es wurde dabei schließlich eine nicht ganz klare Flüssigkeit erhalten, also tatsächlich eine feine Suspension. Letztere wurde dann mit einem gleichen Teile einer gesättigten NaF-Lösung versetzt. Es entstand dabei nach einigen Minuten ein grobflockiger Niederschlag. Nachdem 5 Minuten zentrifugiert worden war, fand sich der Niederschlag der Hauptmasse noch am Boden der Zentrifugenröhren in der Form einer Haut[2]). Die Häute wurden in Aq. dest. gewaschen, eine Haut wurde in 0,02%ige NaOH übertragen, eine andere in verdünnten Ammoniak (1 Teil Amm. liq. auf 100 Teile Aq. dest.). Nach 1 Stunde war in beiden Fällen Lösung eingetreten (Lösung a und b). Die Lösungen a und b wurden in 2 Teile geteilt.

Zu dem einen Teil der Lösungen wurde 8%iges NaCl zu gleichen Teilen hinzugesetzt (a_2, b_2), der andere Teil wurde ohne Kochsalzhinzufügung verwendet (a_1, b_1). Dann wurde zu a_1, b_1 und a_2, b_2 so viel verdünnte Essigsäure hinzugesetzt, bis schwache Trübung entstand. Sämtliche Proben wurden dann bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen. Nach 2 Stunden war in allen Proben ein äußerst zartes Fädchennetzwerk vorhanden.

Bemerkung zu c): Bei einer oberflächlichen Betrachtung würde man geneigt sein können, einen gewissen Widerspruch zu sehen zwischen den von Huiskamp und mir gemachten Beobachtungen. Von Huiskamp (l. c.) wurde gefunden, daß in ähnlicher Weise wie die obenerwähnten mittels verdünnten Ammoniaks hergestellten Lösungen nach der Hinzufügung von etwas Kochsalz neutralisiert werden können, ohne daß Ausflockung eintrete, während dann erst z. B. nach der Hinzu-

[1]) W. Huiskamp, Zur Fibringlobulinfrage. H. S. Zeitschr. f. physiol. Chem. **44**, 182, 1905 und **46**, 272, 1905.

[2]) Mehrmals gelingt es in solchen Versuchen, den erwähnten Niederschlag um einen Glasstab zu wickeln, so daß das Zentrifugieren überflüssig ist, eine Tatsache, die ja auch von Huiskamp erwähnt wird.

fügung von gesättigter NaF-Lösung zu der neutralisierten Flüssigkeit Ausflockung bzw. Gelbildung stattfindet. Der Widerspruch dürfte jedoch nur ein scheinbarer sein. Denn, wie früher ja schon erwähnt wurde, liegt der Punkt, in welchem Ausflockung, bzw. Gelbildung unter dem Einfluß von verdünnten Säuren eintritt in Lösungen von dem in Rede stehenden Kolloid in sehr verdünntem Alkali etwas nach der Säureseite zu. Offenbar ist nun von Huiskamp so viel Säure zu seinen Lösungen hinzugefügt worden, daß eben noch keine Trübung eintrat, während die Alkalität der Flüssigkeit dermaßen verringert bzw. neutralisiert worden war (es ist ja in der Arbeit von Huiskamp von „vollkommen neutralen Lösungen" die Rede), daß nunmehr auf Hinzufügung von gesättigter NaF-Lösung Ausflockung bzw. Gelbildung leicht eintreten konnte. Meiner Erfahrung nach tritt nämlich Gelbildung unter NaF-Einfluß in künstlichen Fibrinalkalihydrosolen nur dann ein, wenn ihr Alkalitätsgrad eine äußerst niedriger ist. Dasselbe hat übrigens auch für gesättigte NaCl-Lösung Geltung.

Übrigens möchte ich nicht unterlassen zu erwähnen, daß es namentlich die sorgfältigen Arbeiten von Huiskamp gewesen sind, die mich dazu veranlaßt haben, die Gelbildung in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen unter dem Einfluß von gesättigten NaF-Lösungen zu studieren.

9. Zu 10 ccm Ascitesflüssigkeit wurden 15 ccm gesättigte NaF-Lösung in einem Reagensgläschen hinzugefügt. Nach 15 Minuten schwache Trübung[1]). Als das Proberöhrchen bei Seitenlicht (gegen Gasglühlicht) gestellt wurde, stellte sich heraus, daß die Trübung tatsächlich von einen zarten Fädchenwerk verursacht wurde. Als nun das Versuchsgläschen vorsichtig um seine Längsachse gedreht wurde, wurde das Erzeugnis auch bei diffusem Tageslicht sichtbar, indem sich die früher schon mehrmals erwähnte „Ballonform" entwickelte. Der obere Teil des Fädchenwerks, der durch ein paar Luftbläschen an der Flüssigkeitsoberfläche haftete, legte sich nämlich zusammen oder besser: unterlag einer gewissen Torsion, während

---

[1]) In Ascites- und Hydroceleflüssigkeiten tritt übrigens öfters unter Hinzufügung von gesättigtem NaF (dasselbe gilt auch für gesättigtes NaCl) keine Trübung bzw. Gelbildung ein, offenbar weil der Alkalitätsgrad in solchen Fällen ein zu hoher ist.

das ganze Erzeugnis sich zu gleicher Zeit etwas von dem Boden des Röhrchens zurückzog. Beim Schütteln verwandelte sich das ganze Gebilde in ein Knäuelchen, das nach oben stieg. Die Probe blieb in diesem Stadium stehen: am nächsten Tag war das Gerinnselchen verschwunden[1]).

10. Zu einer größeren Menge Ascitesflüssigkeit wurden in einer offenen Schale 2 Teile einer gesättigten NaF-Lösung hinzugefügt. Als nach 5 Minuten mit einem Glasstabe gerührt wurde, wickelte sich ein voluminöses, gallertig aussehendes, klebrig anfühlendes Gel um den Stab herum. Das Gel wurde schnell in mehrmals erneuertem Aq. dest. gewaschen, wobei das Spülwasser anfangs trübe wurde. Das Gerinnsel löste sich dabei nicht, es stellte vielmehr eine weiße, nicht mehr klebrige, etwas elastische Fasermasse dar. Mikroskopisch: Gröbere und feine Fädchen, mit eingeschlossenen „Körnchen". Ein kleiner Teil dieser Fasermasse wurde nach Weigert bearbeitet und lieferte Präparate mit einem schön ausgebildeten, typischen Fibrinfädchennetzwerk. Der Hauptteil der Fasermasse wurde in 0,02 $^0/_0$ige NaOH-Lösung übertragen, in der sie sich bald glatt löste. Zu dem Filtrat dieser (sehr konzentrierten) Lösung wurde Rinderserum hinzugesetzt mit dem Erfolg, daß fast momentan ein Koagulum entstand. Das Koagulum wurde in Wasser gewaschen und die erhaltene Fasermasse in 0,02 $^0/_0$iges NaOH übertragen. Lösung in $^1/_2$ Stunde. Zu letzterer Lösung wurde dann wieder Rinderserum hinzugefügt: sofort wieder Koagulum.

[1]) Es war auch schon im vorhergehenden Aufsatz mehrmals die Rede von dem nachherigen Verschwinden von in Transsudaten erzeugten Gerinnseln. Die auffallende Tatsache, daß in gewissen Transsudaten auch die unter NaF-Einfluß gebildeten Gele wieder verschwanden, lenkte dann meine besondere Aufmerksamkeit auf sich. Um so mehr als sich, wie ich hier ergänzend bemerken möchte, herausstellte, daß die unter $CO_2 + CaCl_2$-Lösung oder $CaH_4(PO_4)_2$-Lösungen in Transsudaten erzeugten Gerinnsel für gewöhnlich nicht verschwanden. Ich muß gestehen, daß ich diese Erscheinungen anfangs nicht zu deuten gewußt habe. Nachdem ich jedoch, wie später näher ausgeführt werden wird, die Beobachtung gemacht habe, daß auch solche Gerinnsel, die unter dem Einfluß von Leukocytenextrakten in natürlichen und künstlichen Fibrinalkalihydrosolen erzeugt worden sind, öfters nachträglich wieder (und zwar ebenfalls bei Zimmertemperatur) verschwinden, habe ich mir die Frage vorgelegt, ob es sich in sämtlichen Fällen um einen

11. α) Zu 50 ccm Ascitesflüssigkeit wurden 75 ccm gesättigte NaF-Lösung hinzugesetzt. Indem noch 10 Minuten geschüttelt wurde, bildete sich ein Gerinnsel, das in der Form eines Knäuels an die Flüssigkeitsoberfläche stieg. Die Probe blieb stehen (wie stets, bei Zimmertemperatur). Am nächsten Tage war das Gerinnsel verschwunden.

β) 50 ccm Ascitesflüssigkeit wurden wie zuvor mit 75 ccm gesättigter NaF-Lösung in einem schmalen Zylinderglase versetzt. Nach 20 Minuten, bei Zimmertemperatur sich selbst überlassen, war ein dichtes Fädchenwerk vorhanden. Am nächsten Tage war auch dieses Erzeugnis verschwunden.

γ) Zu 100 ccm Ascitesflüssigkeit wurden 150 ccm gesättigte NaF-Lösung in einem Zylinderglase hinzugefügt. Nach 20 Minuten hatte sich ein Gerinnsel ausgebildet, das den Eindruck einer allseitig geschlossenen Membran machte. Der obere Teil der „Membran" haftete an Luftbläschen an der Flüssigkeitsoberfläche, der untere Teil hatte sich etwas von dem Boden des Gefäßes zurückgezogen. Bei vorsichtigem Hin- und Herbewegen des Gefäßes legte sich die „Membran" zusammen; indem nunmehr geschüttelt wurde, verwandelte sich das Erzeugnis in einen Fadenknäuel, der langsam an die Oberfläche der Flüssigkeit stieg. Das Gerinnsel wurde mit einer Pinzette entfernt, in mehrmals erneuertem Wasser schnell gewaschen und sodann in 0,1 %ige H_3PO_4-Lösung übertragen. Erst nach 4 Stunden hatte sich die Fasermasse gelöst, das Filtrat war opalescierend. Die Hälfte des Filtrats wurde gekocht (Lösung B), die andere Hälfte (Lösung A) wurde ungekocht verwendet in den folgenden Versuchen:

a) Zu je 5 ccm der Lösung A und B wurde tropfenweise 1 %ige NaOH-Lösung hinzugesetzt, bis Trübung entstand. Nach 5 Minuten in beiden Proben Fädchennetzwerk. Nunmehr wurde

---

nachträglichen Abbau des Gerinnsels handeln dürfte, und zwar unter dem Einfluß eines proteolytischen Ferments, dem dann allerdings die merkwürdige Eigenschaft zukommen müßte, bei Zimmertemperatur seine zerlegende Wirkung entfalten zu können, und zwar nur dann, wenn das Kolloid keine Gelegenheit gehabt hatte, bei seinem Übergange in den Gelzustand mit Calcium eine Verbindung einzugehen. Bei dieser Sachlage würde es dann ebenfalls klar werden, weshalb in Transsudaten, die während mehreren bis 24 Stunden stehen geblieben waren, keine oder nur eine spärliche Gelbildung mehr zu erzeugen war.

noch mehr der NaOH-Lösung zu den Proben hinzugegeben, indem die Röhrchen geschüttelt wurden. Die Gele lösten sich dabei wieder, die Reaktion der Lösungen war nunmehr sehr deutlich alkalisch. Sodann wurde zu beiden Lösungen tropfenweise 0,2 $^0/_0$ige H_3PO_4-Lösung hinzugesetzt, bis Trübung eintrat. Nach 5 Minuten in beiden Proben Fädchenwerk.

b) Zu je 5 ccm der Lösung A und B wurde tropfenweise 5 $^0/_0$ige Na_2HPO_4-Lösung hinzugesetzt, bis Trübung eintrat. Nach 5 Minuten in beiden Proben Fädchengerinnsel vorhanden.

Zusammenfassung.

Da ich die Absicht verfolge, in den nächsten Aufsätzen das in diesem und den vorigen Kapiteln vorgebrachte Tatsachenmaterial einer eingehenden Besprechung zu unterwerfen, während ich dann zu gleicher Zeit die beobachteten Erscheinungen näher zu erklären versuchen werde, dürfte es am Platze sein, an dieser Stelle die Resultate der vorliegenden Untersuchungen in aller Kürze folgendermaßen zusammenzufassen.

1. Die in formelementfreiem Blutplasma und in Transsudaten, sei es „spontan" bzw. unter Serum-, Säure- oder Salzeinfluß (mit Namen NaF) sich bildenden Gele, besitzen sämtlich in morphologischer und histologischer Hinsicht Kennzeichen, die man für gewöhnlich dem Fibrin zuschreibt. U. a. stellen diese Gele nach tüchtigem Auswaschen in Aq. dest. eine weiße, mehr oder weniger elastische Fasermasse dar. Dieser Fasermasse liegt stets ein feines Fädchennetzwerk zugrunde, das laut der positiven Ergebnisse der Weigertschen Fibrinfärbung als ein Fibrinfädchenwerk betrachtet werden muß. Weiter trocknen die erwähnten elastischen Fadenmassen an der Luft ein zu harten, spröden, unelastischen Stäbchen, während letztere, in Wasser zurückgelegt, wieder die Eigenschaften der ursprünglichen, wasserfeuchten Faserstoffe zurückerhalten. Eine gewisse Ausnahme machen die unter dem Einfluß von gesätt. NaCl gebildeten Gele. Solche Gele gehen im frisch gebildeten Zustande bekanntlich wieder in Lösung, wenn sie in Wasser übertragen werden: es beruht ja eben auf diesem Umstande die Hammarstensche Methode der Darstellung reiner „Fibrinogenlösungen". Indem ich auf die Natur dieser „Fibrinogenlösungen" später zurückzukommen beabsichtige, sei hier nur

hervorgehoben, daß diese Lösungen gewissermaßen ihren Eigenschaften nach mit Fibrinalkalihydrosolen auf eine Linie zu stellen sind: es kann in diesen „Fibrinogenlösungen“ Gelbildung hervorgerufen werden u. a. unter dem Einfluß von Serum, Säuren und Salzen.

2. Sämtliche obenerwähnten Gele können von sehr schwachen freien Säuren und Alkalien zur „Lösung“ gebracht werden.

3. Die Lösungen der Gele in äußerst verdünntem Alkali (bzw. die Alkalihydrosole des Eiweißstoffes) besitzen dieselben Eigenschaften, die natürlichen fibrinogenhaltigen Flüssigkeiten (Transsudaten, flüssig erhaltenem Blut) eigen sind, nämlich:

a) Es kann in solchen Lösungen Ausflockung bzw. Gelbildung bzw. Gerinnung in Fädchenform herbeigeführt werden unter dem Einflusse von: Blutserum, gesättigten Fluornatriumlösungen, verdünnten freien Säuren und sauren phosphorsauren Salzen von K, Na, Ca (und zwar um den neutralen Punkt herum), sowie von gewissen Säuren in starker Konzentration, und zwar auch dann, wenn die Alkalihydrosole der betreffenden Eiweißstoffe zuvor gekocht worden sind.

Den unter Einfluß von Serum, verdünnten Säuren (und sauren Salzlösungen), sowie von gesättigter NaF-Lösung in den erwähnten Alkalihydrosolen gebildeten Gelen kommen in morphologischer und histologischer Hinsicht dieselben Eigenschaften zu wie dem Ausgangsmaterial, d. h. den zuvor erwähnten Gelen bzw. Faserstoffen. Dasselbe trifft zu gegenüber verdünnten Alkalien und Säuren. Die sekundär erhaltenen Gele lassen sich nämlich in sehr verdünnten Alkalien und Säuren wieder lösen, während in solchen Lösungen dann wieder aufs neue Gelbildung hervorgerufen werden kann. Es lassen sich diese Prozeduren der Sol- und Gelbildung nach Belieben wiederholen, es handelt sich hier also um reversible Reaktionen.

b) Die Alkalihydrosole sämtlicher erwähnter Gele bzw. Faserstoffe können gekocht werden, ohne daß Gelbildung bzw. Ausflockung eintritt. Die gekochten Alkalihydrosole besitzen dieselben Eigenschaften wie die ungekochten. Wenn jedoch die Alkalihydrosole einige Prozente Neutralsalzlösung (4% NaCl z. B.) enthalten, so tritt bei 56° Ausflockung bzw. Gelbildung ein.

4. Der vorliegende Eiweißstoff besitzt die Neigung, bei seinem Übergange aus dem Alkalihydrosol- in den Gelzustand

mit den Reagenzien, von denen die Gelbildung herbeigeführt wird (u. a. mit Calcium bzw. Calciumsalzen), Verbindungen einzugehen; solche Verbindungen haben anfangs den Charakter von Adsorptionsverbindungen, während sie nachträglich in festere, mehr stabilere Verbindungen übergehen können.

5. Es kann unter Umständen in den Alkalihydrosolen des in Rede stehenden Eiweißstoffes echte „spontane" Gelbildung („Altern der Sole") eintreten, nämlich dann, wenn solche Lösungen sehr konzentriert sind und äußerst wenig Alkali enthalten. In diesem Falle tritt Gelbildung für gewöhnlich ein in der Form einer echten Gallerte (aus der erst nach mehrtägigem Waschen und Schütteln in viel Aq. dest. Häutchen und Fäserchen zu erhalten sind), während in allen anderen oben erwähnten Fällen Gelbildung in Fädchenform stattfindet.

6. Vorläufig abgesehen von dem in anderer Weise entstehenden Gele, geht aus der Tatsache, daß das im flüssig erhaltenen Plasma, Transsudaten und Hammarstens „Fibrinogenlösungen" unter Serumeinfluß gebildete Gel, das ja bekanntlich allgemein als „Fibrin" betrachtet wird, wieder von sehr verdünntem Alkali aufgelöst werden kann, während in solchen Fibrinalkalihydrosolen unter Serumeinfluß wieder Gelbildung herbeigeführt werden kann, indem diese Prozeduren der Sol- und Gelbildung sich nach Belieben wiederholen lassen, hervor, daß das Fibrin als ein reversibles Gel betrachtet werden muß.

7. Es will mir übrigens scheinen, daß es sich bei den sämtlichen vorliegenden Versuchen tatsächlich um einen und denselben Eiweißstoff handelt. Um einen Eiweißstoff also, dem das Vermögen zukommt, in Fädchenform agglutinieren, bzw. ein Fädchennetzwerk bilden zu können (das sich nach der Weigertschen Fibrinfärbungsmethode färbt), wenn er in irgendeiner Weise aus seinem Alkali- oder Säurehydrosolzustande „ausgeflockt" wird. Und weiter, daß dieser Eiweißstoff eben in Transsudaten, in flüssig erhaltenem Blutplasma und somit im Blute im Alkalihydrosolzustande (und nicht im Säurehydrosolzustande) vorhanden ist. Daß also das Zustandekommen der Blutgerinnung grundsätzlich dem Vorgange des Übergangs dieses Eiweißstoffs aus dem Alkalihydrosolzustande

(Fibrinogen) in den Gelzustand (und zwar in Fädchennetzwerkform) zu verdanken ist. Allerdings wird der in Rede stehende Eiweißstoff, wie im Experiment, auch in natura (bei der Blutgerinnung also) bei seinem Übergange aus dem Alkalihydrosol- in den Gelzustand mehr oder weniger leicht reversible Verbindungen eingehen können (und auch werden), mit den Reagenzien, die diese Zustandsänderung in diesem wichtigen Spezialfalle herbeiführen, bzw. mit den Stoffen, die bei diesem Vorgange naturgemäß in reaktionsfähigem Zustande gegenwärtig sind. Für die Bildung des Fädchenwerkes an sich dürften solche Verbindungen jedoch nur von nebensächlicher Bedeutung sein, während ihr dem entgegen eine große praktische Bedeutung beigemessen werden mußte mit Rücksicht auf die Bildung eines weniger löslichen (weniger leicht reversiblen), also bestimmten Einflüssen gegenüber beständigeren Gels. Es liegt nun meines Erachtens kein Grund vor, um eine der vielen mehr oder weniger leicht reversiblen Verbindungen, die der betreffende Eiweißstoff einzugehen vermag (z. B. mit Calcium bzw. Calciumsalzen, mit Stoffen mit Säureeigenschaften usw.) mit dem Namen „Fibrin“ zu benennen. Ich möchte vielmehr vorschlagen, für den vorliegenden Eiweißstoff an sich, dem ja, wie gesagt, eben das Vermögen zukommt, ein Fädchennetzwerk (das sich nach der Weigertschen Fibrinfärbungsmethode färbt) bilden zu können, den Namen „Fibrin“ zu verwenden.

Der Frage, von welchen Einflüssen der Übergang dieses Eiweißstoffs aus seinem Alkalihydrosol- in den Gelzustand in natura herbeigeführt werden möge, werde ich im Laufe von weiteren Ausführungen näherzutreten versuchen.

Über die Beziehung der Bindung zur Wirkung des Komplementes bei der Hämolyse.

Von

Edmund Weil[1]).

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 8. Juni 1914.)

Durch die genauere Untersuchung des hämolytischen Komplementes haben sich Befunde ergeben, die dessen Wirkung nicht in so einfacher Weise erklären ließen, als man nach den ursprünglichen Vorstellungen angenommen hatte. Man hat sich zwar bemüht, entsprechend der Seitenkettentheorie eine hapto- und zymophore Gruppe nachzuweisen, aber man stieß dabei auf nicht unerhebliche Schwierigkeiten. Zunächst konnten im Anschluß an Versuche von Brand[2]), der im Mittelstück des Komplementes dessen haptophore Gruppe nachwies, Braun[3]) und Liefmann und Cohn[4]) zeigen, daß das Mittelstück zwar von sensibilisierten Blutkörperchen gebunden wird, aber erst dann, wenn eine Sensibilisierung mit 25 bis 50 lösenden Dosen erfolgt ist. Man darf sich nicht verhehlen, daß diese Befunde sehr gegen die Deutung einer haptophoren Gruppe im gewöhnlichen Sinne sprechen, die ja, wenn sie wirkt, mit einer maximalen Avidität an das entsprechende Substrat herantreten soll. Man könnte nach diesen Versuchen höchstens annehmen, daß das Mittelstück schwach wirksame Anteile der bindenden Gruppen des Komplementes enthält.

---

1) Weil, E., diese Zeitschr. **48**, H. 5.
2) Brand, Berliner klin. Wochenschr. **1907**, 34.
3) Braun, diese Zeitschr. **31**.
4) Liefmann und Cohn, Zeitschr. f. Immunit. 6, 7, 8.

Nachdem durch die Kobragiftmodifikation des Komplementes [Braun, Sachs[1]) und Ritz] das Mittel- + Endstück, ohne Hämolyse zu bewirken, zu erlangen war, haben wir eine Reihe von Versuchen angestellt, um die Bindungsverhältnisse zu studieren. Dabei zeigte sich, daß Blutkörperchen, die nur mit 5 lösenden Dosen sensibilisiert waren, Mittel- + Endstück verankerten, daß die Bindung jedoch mit steigender Amboceptormenge stärker wurde. Dahingegen konnten wir die überraschende Tatsache feststellen, daß die 3. Komponente, deren isolierte Bindung bereits Ritz[2]) vermißt hatte, quantitativ vollkommen intakt blieb, nachdem das Gesamtkomplement Blutkörperchen aufgelöst hatte. Auch Nathan[3]) hat die Bindung der 3. Komponente untersucht und gefunden, daß Blutkörperchen, die mit 50 lösenden Dosen und mit Mittel- + Endstück beladen waren, in der Kälte die 3. Komponente nicht verankerten. Nathan mußte allerdings den Schluß, der sich aus unserer Versuchsanordnung zwingend ergab, daß die 3. Komponente wirkt, ohne gebunden zu werden, nicht ziehen, da er durch die Behandlung bei 0° die Hämolyse unterdrückte und die 3. Komponente ihre Funktion nicht ausüben ließ. Immerhin beweisen auch diese Versuche, daß die 3. Komponente, selbst unter so extrem günstigen Bedingungen, die Nathan wählte, nicht gebunden wird.

Nachdem die Verankerungsfähigkeit des Mittel- + Endstückes des Kobraserums erwiesen war, war die Frage zu entscheiden, ob die Bindung die unerläßliche Vorbedingung für die hämolytische Wirkung darstelle. Es wäre nämlich möglich, daß die Bindung der beiden Komponenten des Kobraserums nur eine untergeordnete Rolle für die Hämolyse spielen könnte, was allerdings mit der herrschenden Anschauung unvereinbar, nach dem bisher vorliegenden Versuchsmaterial jedoch nicht unmöglich wäre. Wir erinnern nur an die Versuche von Liefmann und Cohn und Bail und Susuki[4]), die nachwiesen, daß das Gesamtkomplement in so geringem Maße in den Vorgang der Hämolyse eingreift, daß der geringe Verbrauch des-

---

[1]) Sachs und Omorokow, Zeitschr. f. Immunit. 11.

[2]) Ritz, Zeitschr. f. Immunit. 13.

[3]) Nathan, Zeitschr. f. Immunit. 21.

[4]) Bail und Susuki, Zeitschr. f. Immunit. 8, 9.

selben auf sekundäre Prozesse zurückgeführt werden konnte (Methämolyse Bail). Da nun in der von uns gewählten Versuchsanordnung die Hämolyse in Wegfall gerät, so war die Beantwortung der vorliegenden Frage in einwandfreierer Weise möglich. Da sowohl in den eigenen Experimenten als auch in denen von Nathan die Sensibilisierung der Blutkörperchen mit weniger als 5 lösenden Dosen nicht vorgenommen wurde, das in seine Komponenten zerlegte Komplement jedoch auch die mit der einfach lösenden Dosis behandelten Blutkörperchen löst, so war zu prüfen, wie sich die Bindungsverhältnisse des Mittel- + Endstückes bei weniger als 5 fach sensibilisierten Blutkörperchen gestalten.

Die Versuchsanordnung war folgende: Blutkörperchen wurden verschieden stark sensibilisiert, der Einwirkung des Kobraserums eine Zeitlang ausgesetzt und hierauf zentrifugiert. Nach Zugabe der 3. Komponente zu den Rückständen mußte sich zeigen, ob diese genügend von Mittel- + Endstück gebunden hatten, um gelöst zu werden, während die Abgüsse auf einen etwaigen Verlust zu prüfen waren. Weiter wurden die verschieden stark sensibilisierten Blutkörperchen mit Kobraserum und dritter Komponente gemischt, um den Grad der Hämolyse zu bestimmen. Wenn die zur Lösung nötigen Mengen des Kobraserums (Mittel- + Endstück) gebunden waren, durfte sich eine Differenz zwischen den Rückständen und den unzentrifugierten Gemischen nicht merkbar machen.

Versuchstechnik. Die zu den Versuchen verwendeten Blutkörperchen wurden mit den verschiedenen Immunserumdosen sensibilisiert, hierauf zentrifugiert und, um das überschüssige Serum wegen des etwaigen Gehaltes an 3. Komponente zu entfernen, stets einmal gewaschen. Bei der Herstellung des Kobraserums sind wir insofern von den Angaben von Omorokow[1]) abgewichen, als wir die Behandlung auf 1 Stunde 25 Minuten ausdehnten, um eine Lösung des Kobraserums sicher hintanzuhalten. Die sensibilisierten Blutkörperchen wurden jedesmal 1 Stunde bei 37° mit Kobraserum behandelt, dann zentrifugiert, einmal gewaschen, damit nicht zurückgebliebene Reste des Kobraserums eine Bindung vortäuschen. Das Gesamtvolumen der einzelnen Röhrchen betrug meist 2,5 ccm. Die Blutkörperchen wurden in 5 % Aufschwemmung benutzt. Wichtig ist die Anstellung eines Vorversuches, um die Menge der 3. Komponente, die anzuwenden ist, zu bestimmen, da das Resultat des Versuches hauptsächlich davon abhängig ist, daß die Menge der

[1]) Sachs und Omorokow, Zeitschr. f. Immunit. 11.

3. Komponente nicht zu groß gewählt wird. Bei Meerschweinchenseren ist meist 0,03 bis 0,05, bei Schweineseren eine viel geringere Menge anzuwenden. Man wählt diejenigen Dosen, welche die stark sensibilisierten Blutkörperchen in ca. 30 Minuten, die schwach sensibilisierten in $1^1/_2$ bis 2 Stunden lösten. Kobraserum wurde stets in der Dosis von 1 oder 0,5 ccm der 20 fachen Verdünnung des konzentrierten Serums benutzt.

Da wir nun im nachfolgenden untersuchen wollen, ob bei der Hämolyse, also bei der Komplementwirkung, die Komponenten des Komplementes gebunden werden, so müssen wir zunächst den Umstand in Betracht ziehen, daß neben der Komplementwirkung auch die Komplementbindung eine Rolle spielt, daß aber beide Vorgänge streng voneinander zu unterscheiden sind. Da die Komplementbindung in hämolytischen Immunseris meist erst in beträchtlich höheren Dosen zu konstatieren ist als die hämolytische Wirkung, so wäre es möglich, daß bei der Sensibilisierung mit der 5 fach lösenden Menge die Verankerung des Mittel- + Endstückes des Kobraserums ein Ausdruck der Komplementbindung und nicht eine Voraussetzung der Komplementwirkung ist, daß aber bei schwächer sensibilisierten Blutkörperchen trotz Eintretens der Hämolyse die Bindung unterbleibt. Da nach den Angaben von Browning und Wilson[1]) die komplementbindenden Antikörper in hämolytischen Immunseris erst nach mehrmaliger Injektion entstehen, Hämolysine jedoch schon in reichlichem Maße nach einmaliger Vorbehandlung auftreten, so haben wir zunächst die Versuche mit Immunseris angestellt, die von Kaninchen durch einmalige intravenöse Injektion von 1 ccm Hammelblut gewonnen waren.

Die 3 folgenden Versuche wurden mit drei verschiedenen auf die eben erwähnte Weise hergestellten Immunseris angestellt. Die Versuchsanordnung war folgende:

I. ist der mit Kobraserum behandelte, zentrifugierte Blutkörperchenrückstand + 3. Komponente.
II. ist der Abguß davon + 3. Komponente.
III. ist das Gemisch der Blutkörperchen mit Kobraserum + 3. Komponente.
IV. ist das Gemisch der Blutkörperchen mit nativem Komplement.

[1]) Browning und Wilson, Journ. of Hygiene 11, Nr. 2.

Versuch 1.

In diesem Versuche wurde das Immunserum I verwendet.

Sensibil. mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)			IV. (nat. Kompl. 0,05)		
	Resultat nach											
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,0075	w	m	st	s. st	k	k	f. k	k	k	k	k	k
0,005	Sp	m	st	s. st	k	k	s. st	k	k	k	k	k
0,0025	0	w	st	w	f. k	k	w	f. k	k	f. k	k	k
0,001	0	0	Sp	Sp	w	st	Sp	w	st	w	m	k
0,0005	0	0	0	0	Sp	m	0	Sp	m	0	Sp	st

Kobraserum 0,5 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente 0,05 . . . . „ 2 „ 0
(Meerschweinschenserum 20 Min. 54°.)

Versuch 2.

In diesem Versuche wurde das Immunserum II verwendet.

Sensibil. mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)			IV. (nat. Kompl. 0,05)		
	Resultat nach											
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,01	0	w	m	st	k	k	st	k	k	—	—	—
0,0075	0	Sp	m	st	k	k	st	k	k	st	k	k
0,005	0	0	w	Sp	w	f. k	Sp	w	f. k	Sp	st	k
0,0025	0	0	0	0	Sp	st	0	Sp	st	0	Sp	st
0,001	0	0	0	0	0	w	0	0	w	0	0	w

Kobraserum 0,5 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente 0,05 . . . . „ 2 „ 0

Versuch 3.

In diesem Versuche wurde das Immunserum III angewendet.

Sensibil. mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)			IV. (nat. Kompl. 0,05)		
	Resultat nach											
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,01	0	w	m	st	k	k	st	k	k	st	k	k
0,0075	0	w	m	m	st	k	m	st	k	m	st	k
0,005	0	Sp	Sp	Sp	m	st	Sp	m	st	Sp	m	st
0,0025	0	Sp	Sp	0	Sp	st	0	Sp	st	0	Sp	st
0,001	0	0	0	0	0	Sp	0	0	Sp	0	0	Sp

Kobraserum 0,5 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente 0,05 . . . . „ 2 „ 0

Die Bezeichnung des Hämolysegrades wurde in derselben Weise gewählt wie in der früheren Publikation (diese Zeitschr. 48, H. 5).

Aus den vorangehenden Versuchen ergibt sich eine starke Differenz in dem Ausfall der Hämolyse zwischen den Blutkörperchen, die mit Kobraserum behandelt und zentrifugiert wurden, und jenen, bei denen das Kobraserum aus dem Gemisch nicht enfernt wurde. Wir sehen dies nicht nur daraus, daß die behandelten Blutkörperchen nicht vollständig gelöst und insbesondere zeitlich eine starke Verschiedenheit gegenüber den nicht zentrifugierten Gemischen aufweisen, sondern auch aus den Abgüssen, bei denen ein Verlust an Mittel- und Endstück fast nicht zu konstatieren ist. Wir entnehmen weiter, daß die Bindung bei Sensibilisierung mit nahezu 5 lösenden Dosen nur eine ganz minimale sein kann, da nicht soviel gebunden erscheint, daß in den von uns gewählten Mengenverhältnissen eine komplette Hämolyse, die in dem Gemische glatt und nach kurzer Zeit eintritt, zustande kommt.

Eine Reihe weiterer Versuche haben wir mit hämolytischen Immunseris, die von Meerschweinchen gewonnen wurden, angestellt, die nach unseren Feststellungen im Verhältnis zu Immunseris von Kaninchen eine sehr geringe Avidität aufweisen, so daß nur 2 bis höchstens 5 lösende Dosen verankert werden. Es war deshalb zu erwarten, daß die schwach aviden Immunkörper des Meerschweinchens auch nur wenig von den Komponenten des Kobraserums binden werden. Die Versuchsanordnung war genau dieselbe wie im vorangehenden. Die Immunsera stammten von Meerschweinchen, die 3 mal je 1 ccm Hammelblut intraperitoneal erhalten hatten.

Versuch 4.

Immunserum von Meerschweinchen I.

Sensibil. mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)			IV. (nat. Kompl. 0,05)		
	Resultat nach											
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,01	Sp	m	m	Sp	m	m	st	f. k	k	k	k	k
0,0075	Sp	m	m	Sp	m	m	st	f. k	k	k	k	k
0,005	Sp	m	m	m	st	st	m	st	f. k	k	k	k
0,0025	0	0	Sp	Sp	st	st	Sp	st	st	st	f. k	k
0,001	0	0	0	0	Sp	m	0	Sp	m	0	Sp	m

Kobraserum 1 ccm . . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente 0,03 . . . . „ 2 „ 0
Nat. Komplement 0,05 . . . „ 2 „ 0

Versuch 5.

Immunserum von Meerschweinchen II.

Sensibil. mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)			IV. (nat. Kompl. 0,05)		
	Resultat nach											
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,01	Sp	w	m	Sp	m	m	st	f. k	k	k	k	k
0,0075	Sp	w	m	Sp	m	m	st	st	k	k	k	k
0,005	Sp	w	m	m	st	st	m	st	st	k	k	k
0,0025	0	0	Sp	0	m	st	0	m	st	m	st	k
0,001	0	0	0	0	Sp	w	0	Sp	w	0	0	w

Kobraserum 1 ccm . . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente 0,03 . . . . „ 2 „ 0
Nat. Komplement 0,05 . . . „ 2 „ 0

Die Voraussetzung, daß die Hämolysine des Meerschweinchens weniger binden, ist, wie man den vorangehenden Versuchen entnimmt, nicht eingetreten. Eher scheint das Gegenteil der Fall zu sein. Es geht zwar auch aus diesen Versuchen klar hervor, daß die sensibilisierten Blutkörperchen, die mit der doppelt bis 3 fach lösenden Dosis behandelt sind, nicht soviel Mittel- + Endstück binden, als sie zur Auflösung bedürfen, aber die Untersuchung der Abgüsse lehrt, daß ein deutlicher Defekt bei den Abgüssen besteht, die von den stärker sensibilisierten Blutkörperchen stammen, daß jedoch bei der Sensibilisierung mit der einfach lösenden Dosis auch nicht der geringste Verlust zu konstatieren ist.

Da nach den Ermittlungen von Jonas[1]) sich das Schweineserum als 3. Komponente besonders gut eignet, haben wir die weiteren Versuche mit diesem Serum angestellt.

Versuch 6.

Immunserum von Kaninchen I.

Sensibilisierung mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)		
	Resultat nach								
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,005	0	0	0	m	f. k	k	f. k	k	k
0,004	0	0	0	m	f. k	k	f. k	k	k
0,003	0	0	0	m	f. k	k	m	k	k
0,002	0	0	0	w	st	st	w	st	f. k
0,001	0	0	0	0	w	st	0	st	st

Kobraserum 1 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente (Schweineserum) 0,0075 . . „ 2 „ 0

[1]) Jonas, Zeitschr. f. Immunit. 17.

Versuch 7.

Immunserum von Kaninchen II.

Sensibilisierung mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)		
	Resultat nach								
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,007	0	0	0	w	m	f. k	m	st	k
0,006	0	0	0	w	m	f. k	m	st	k
0,005	0	0	0	w	st	f. k	w	st	k
0,003	0	0	0	Sp	Sp	Sp	Sp	w	st
0,002	0	0	0	0	Sp	Sp	0	Sp	Sp

Kobraserum 1 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente (Schweineserum) 0,0075 . . „ 2 „ 0

Versuch 8.

In diesem Versuche wurde gleichzeitig ein Immunserum, das vom Kaninchen, das dreimal mit Hammelblut vorbehandelt war (Kaninchen IV), und vom Meerschweinchen I untersucht.

Immunserum von Kaninchen IV.

Sensibilisierung mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)		
	Resultat nach								
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,006	0	0	Sp	s. st	f. k	k	k	k	k
0,005	0	0	Sp	f. k	f. k	k	k	k	k
0,003	0	0	0	f. k	f. k	k	f. k	f. k	k
0,002	0	0	0	w	s. st	f. k	w	s. st	f. k
0,001	0	0	0	0	Sp	st	0	Sp	st

Immunserum von Meerschweinchen I.

Sensibilisierung mit Immunserum	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,006	w	st	s. st	st	f. k	f. k	k	k	k
0,005	w	m	st	st	f. k	f. k	k	k	k
0,003	0	0	Sp	st	f. k	k	k	k	k
0,002	0	0	0	f. k	k	k	f. k	k	k
0,001	0	0	0	m	st	f. k	m	st	f. k

Kobraserum 1 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente (Schweineserum) 0,0025 . . „ 2 „ 0

Diesen Versuchen entnimmt man, daß bei Verwendung von Schweineserum als 3. Komponente die Resultate viel deutlicher in dem Sinne ausfallen, daß bei geringer Sensibilisierung die

zur Hämolyse nötige Menge des Mittel- + Endstückes nicht gebunden wird. Auch aus diesen Versuchen geht hervor (Versuch 8), daß die vom Meerschweinchen stammende Hämolyse eine stärkere Bindungskraft gegenüber dem Kobraserum aufzuweisen scheinen.

Um die Differenz zwischen Schweine- und Meerschweinchenserum als 3. Komponente mit Sicherheit festzustellen, wurde ein Parallelversuch mit den titrierten Mengen dieser beiden Sera angestellt. Bei Verwendung von 1 ccm Kobraserum konnte Schweineserum in der Dosis von 0,0025, Meerschweinchenserum in der Menge von 0,025 angewendet werden, um bis zur Titregrenze zu lösen. Das Schweineserum wurde, wie auch in allen übrigen Versuchen, $^1/_2$ Stunde auf 55° erhitzt.

Versuch 9.

Immunserum von Kaninchen IV.

Sensibilisierung mit Immunserum	I. (Rückstand)						II. (Abguß)					
	Meerschw.-Serum als 3. Komponente			Schweineserum als 3. Komponente			Meerschw.-Serum als 3. Komponente			Schweineserum als 3. Komponente		
	Resultat nach:											
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,005	w	f. k	f. k	0	0	Sp	st	f. k	k	m	f. k	k
0,004	0	m	st	0	0	0	st	f. k	k	m	f. k	k
0,003	0	m	st	0	0	0	st	f. k	k	m	f. k	k
0,002	0	0	0	0	0	0	Sp	m	s. st	w	st	f. k
0,001	0	0	0	0	0	0	0	0	m	0	Sp	m

Sensibilisierung mit Immunserum	III. (Gemisch)						IV. (Natives Komplement)		
	Meerschw.-Serum als 3. Komponente			Schweineserum als 3. Komponente					
	Resultat nach								
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,005	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,004	k	k	k	k	k	k	k	k	k
0,003	st	f. k	k	f. k	k	k	st	k	k
0,002	Sp	m	f. k	w	f. k	k	Sp	m	k
0,001	0	0	m	0	Sp	st	0	0	f. k

Kobraserum 1 ccm . . . . nach 2 Std. 0
3. Komponente 0,025 (Meerschw.-Serum) . „ 2 „ 0
3. „ 0,0025 (Schweineserum) . . „ 2 „ 0

Die Verschiedenheit bezüglich der durch Schweine- und Meerschweinchenserum zur Auflösung gebrachten Blutkörperchen tritt in diesem Versuche klar hervor, indem die Rückstände der mit Kobraserum behandelten Erythrocyten durch Schweineserum als 3. Komponente viel weniger gelöst werden als durch Meerschweinchenserum. Diese Differenz ist um so auffälliger, als das Schweineserum stärker löst, und um so unverständlicher, als in den Abgüssen das Schweineserum den Verlust an Mittel- + Endstück schärfer anzeigt als das Meerschweinchenserum. Jedenfalls aber lehren diese Versuche, daß das Schweineserum viel geeigneter erscheint als das Meerschweinchenserum, um zu zeigen, daß die Bindung des Mittel- + Endstückes aus dem Kobraserum nicht die unerläßliche Voraussetzung für das Zustandekommen der Hämolyse darstellt.

Es wäre nun die Frage zu beantworten, worauf der Unterschied zwischen Schweineserum und Meerschweinchenserum als 3. Komponente beruht. Die einzige Differenz besteht darin, daß wir bei ersterem viel geringere Dosen anwenden können, um denselben hämolytischen Effekt zu erzielen. So genügte in Versuch 9 die 10fach geringere Menge, um dieselbe hämolytische Kraft zu entfalten. Um zu untersuchen, welchen Einfluß die Menge des Schweineserums auf den Nachweis der Bindungsfähigkeit des Mittel- + Endstückes nimmt, haben wir beifolgenden Versuch angestellt.

Versuch 10.

Immunserum von Kaninchen IV.

Sensibilisierung mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)		
	Resultat nach								
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,005	w	st	f. k	st	f. k	k	k	k	k
0,004	w	st	f. k	st	f. k	k	s. st	k	k
0,003	Sp	w	m	st	f. k	k	s. st	k	k
0,002	0	Sp	Sp	w	st	f. k	w	st	f. k
0,001	0	0	0	0	Sp	m	0	Sp	m

Menge des verwendeten Schweineserums 0,05.

Sensibilisierung mit Immunserum	I. (Rückstand)			II. (Abguß)			III. (Gemisch)		
	Resultat nach								
	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.	30 M.	1 Std.	2 Std.
0,005	0	0	w	st	f. k	k	k	k	k
0,004	0	0	Sp	st	f. k	k	s. st	f. k	k
0,003	0	0	0	st	f. k	k	st	f. k	k
0,002	0	0	0	Sp	m	s. st	Sp	m	s. st
0,001	0	0	0	0	Sp	w	0	Sp	m

Menge des verwendeten Schweineserums 0,0075.

Kobraserum 1 ccm . . . . nach 2 Std. 0
Schweineserum 0,05 . . . . „ 2 „ 0
„ 0,0075 . . . . „ 2 „ 0

Dieser Versuch beweist, daß mit der Zunahme der Menge des Schweineserums das Resultat ähnlich wird dem, das man mit Meerschweinchenserum erzielt. Dabei ist zu bedenken, daß die 6 fach größere Menge von Schweineserum eine nicht wesentlich stärkere Hämolyse bedingt als die einfache, trotzdem aber eine Bindung von Mittel- + Endstück an die sensibilisierten Blutkörperchen deutlich hervortreten läßt, die jedoch, wie die Anwendung der geringen Menge Schweineserum zeigt, zum Effekt der Hämolyse nicht nötig erscheint. Es läßt sich also vorderhand nur soviel sagen, daß bezüglich der Differenz zwischen Meerschweinchen- und Schweineserum die geringeren absoluten Mengen des letzteren, die nötig sind, um bei sensibilisierten Blutkörperchen mit Kobraserum Hämolyse zu bewirken, verantwortlich zu machen sind. Wahrscheinlich bedürfen die geringen Dosen Schweineserums größerer Mengen Kobraserums zur Hämolyse, so daß die geringe Bindung des Mittel- + Endstückes zur Lösung nicht ausreicht.

Der Schluß, der sich aus unseren Versuchen ergibt, ist der, daß das Mittel- + Endstück der im Kobraserum enthaltenen Komplementmodifikation, das mit der 3. Komponente zusammen sensibilisierte Blutkörperchen löst, nicht in der Quantität gebunden wird, als die Blutkörperchen zu ihrer Lösung bedürfen. Da aber nach den geltenden Anschauungen eine Wirkung biologischer Stoffe nur dann zustande kommen kann, wenn zuvor eine Bindung eingetreten ist, so bleibt diese Feststellung vorderhand unverständlich. Wenn wir das Verhältnis der Bindung des hämolytischen Komplementes zu dessen Wirkung betrachten,

so ergibt sich nach den bisherigen Feststellungen ungefähr folgendes. Eine Bindung des isolierten Mittelstückes erfolgt unter den Bedingungen, unter denen gewöhnlich die Hämolyse eintritt, nicht; sie kann nur erzwungen werden, wenn man die Blutkörperchen enorm stark sensibilisiert, so daß es nicht gerechtfertigt erscheint, das Mittelstück als die haptophore Gruppe des Komplementes zu betrachten. Eine Verankerung des isolierten Endstückes ist nicht beobachtet worden, ebensowenig wie eine Bindung der isolierten 3. Komponente. Läßt man jedoch die Komponenten des Komplementes nicht isoliert, sondern vereint auf die sensibilisierten Blutkörperchen einwirken, so tritt bezüglich der Verankerungsfähigkeit insofern eine Veränderung ein, als wir sowohl als auch Nathan bei Sensibilisierung mit 5 lösenden Dosen eine Bindung des Mittel- + Endstückes konstatieren konnten. Daß jedoch diese Bindung nicht für die Wirkung des Komplementes nötig ist, glauben wir durch die vorliegenden Versuche gezeigt zu haben, indem bei Sensibilisierung mit weniger als 5 lösenden Dosen, bei denen durch Kobraserum und 3. Komponente Hämolyse glatt auftritt, eine Bindung nicht in dem Maße erfolgt, daß diese für die Hämolyse verantwortlich gemacht werden muß. Allerdings wäre noch der Einwand möglich, daß die Bindung des Mittel- + Endstückes erst durch die Anwesenheit der 3. Komponente bedingt wird, so daß die Versuche in der Weise auszuführen wären, daß nach eingetretener Hämolyse durch Kobraserum + 3. Komponente die Intaktheit der Komplementkomponenten nachgewiesen werden müßten. Dem steht jedoch die Tatsache im Wege, daß nach der Hämolyse ein Verbrauch der Komponenten des Komplementes, wahrscheinlich des Mittelstückes eintritt, auch scheint die Anwesenheit des Kobragiftes hier störend zu interferieren. Ein derartiger Einwand schiene uns auch sehr gezwungen zu sein, denn es bildet ja gerade die Grundidee der Seitenkettentheorie, daß die haptophore Gruppe allein eine starke Avidität zu den spezifischen Receptoren aufweist und daß die zymophore Gruppe nichts dazu beiträgt, diese Avidität irgendwie störend zu beeinflussen. Es ist bisher nicht bekannt geworden, daß die Zerstörung oder das Fehlen der zymophoren Gruppe, sei es bei den Toxinen oder Agglutinen, denen ja derselbe Bau zugeschrieben wird wie dem Komplement, die Ver-

ankerungsfähigkeit der haptophoren Gruppe stört; gerade das Gegenteil wurde meist angenommen. Da nun das Komplement mit den übrigen biologisch wirksamen Stoffen seinem Bau nach identifiziert wird, so unterliegt es keinem Zweifel, daß im Kobraserum eine bindende Gruppe enthalten sein muß, die ohne Mitwirkung der 3. Komponente jene Fixierbarkeit aufweisen müßte, die der haptophoren Gruppe zugeschrieben wird. Das ist jedoch in Wirklichkeit nicht der Fall.

Zusammenfassung.

1. Hammelblutkörperchen, die mit weniger als 5 lösenden Dosen sensibilisiert sind, binden aus dem Kobraserum nicht soviel vom Mittel- + Endstück, als sie zu ihrer Auflösung durch die 3. Komponente bedürfen.

2. Bei Verwendung von Schweineserum als 3. Komponente läßt sich diese Tatsache viel besser demonstrieren, als bei Verwendung von Meerschweinchenserum.

3. Daraus läßt sich schließen, daß das Mittel- + Endstück seine Wirkung ausüben kann, ohne verankert zu werden.

Der kolloidale Stickstoff des Harns und seine Bedeutung für die klinische Carcinomdiagnostik.

Von

Dr. P. L. J. de Bloeme, S. P. Swart und A. J. L. Terwen.

(Mitteilungen aus dem pathologischen Laboratorium der Universität Amsterdam.)

(Eingegangen am 11. Juni 1914.)

Die immer inniger werdende Verknüpfung von Biologie und Kolloidchemie, das Hineintragen kolloidchemischer Probleme in unser medizinisches Denken, macht es fast unverständlich, daß die wichtige Beobachtung E. Salkowskis am Ende des Jahres 1905, wonach in einem Falle von akuter gelber Leberatrophie bei einer Schwangeren die Menge alkoholunlöslicher bzw. kolloidaler Substanzen im Harn auffällig vermehrt war, mehr als 4 Jahre brauchte, um von klinischer Seite verwertet und erweitert zu werden.

Salkowski[1]) isolierte damals die bezüglichen Stoffe durch Dialyse und stellte damit ihre kolloidale Natur fest. Er analysierte den adialysablen Rest aus normalem Harn und trennte ihn in mindestens zwei Komponenten, wovon die eine N-haltig war, Kohlenhydrateigenschaften zeigte, durch Säure, nicht durch Ptyalin hydrolysierbar war; sie ließ sich fällen mit Phosphorwolframsäure + Salzsäure, wie auch von Bleiessig + Ammoniak. Die andere Komponente war schwefelhaltig und wurde von Knochenkohle adsorbiert. S. wies darauf hin, daß einige Reaktionen mit der Oxyproteinsäure Bondzynskis und Gottliebs übereinstimmten, machte aber keinen Versuch, diese Säure zu isolieren.

Daß im Harn N-haltige Kolloide vorkommen, wußte schon Mme Eliacheff[2]), die nach Dialyse von 42 l Harn innerhalb der dialysierenden Membran eine sauer reagierende, reduzierende Masse zurückbehielt.

---

[1]) E. Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1905, 1581.

[2]) Mme Eliacheff, Mém. d. l. Soc. d. Biol. 3, 1891.

Auch die Hofmeistersche Schule nahm das Studium der Harnkolloide auf. K. Sasaki[1]) nennt als adialysable Stoffe Eiweiß, Mucoid, Chondroitinschwefelsäure, Nucleinsäure, Silikate und Fermente. Die Farbstoffe dialysieren fast ganz. Das Bariumsalz der Oxyproteinsäure dialysiert relativ leicht. Daß die adialysable Substanz giftig sei, wie Eliacheff fand, konnte er nicht bestätigen, kann jedoch nach H. Přibrams[2]) Untersuchungen nicht mehr zweifelhaft sein. Fand doch dieser Autor, daß die giftige Substanz für Kaninchen sich in dem in Alkoholäther unlöslichen Anteil der adialysablen Stoffe vorfindet. Es gelang auch, durch deren Injektion Präcipitine gegenüber normalem Harn zu erzeugen.

Einige klinische Bedeutung erhielten die nicht-dialysierenden Stoffe durch M. Ebbecke[3]). Er konstatierte Vermehrung bei Nephritis, Eklampsie, Pneumonia crouposa. Es finden sich in seiner Arbeit zwischen anderen Krankheiten auch ein Fall von Carcinoma ventriculi und drei von Carcinoma prostatae mit Mittelwerten. Ein normaler Mann schied 0,87 bis 2,36 g pro Tag aus. M. Savarè[4]) kam bei gesunden Frauen zu niedrigeren Zahlen: 0,44 g. Bei hochgraviden Frauen fand er im Mittel 0,60 g, bei Nephritis 0,75 g, bei Eklampsie in 19 Fällen 2,25 bis 13,84 g, also sehr erhöhte Werte. Im letzten Eklampsiefall war die isolierte Substanz sehr toxisch für Kaninchen. Sie zeigte Proteidreaktionen: enthielt reichlich Phosphor und lieferte bei der Spaltung mit Säure meistens Purinbasen. Im Gegensatz zu Ebbecke fand er, daß Hunger oder reichliche Nahrung die Menge adialysabler Substanz unbeeinflußt ließen.

In exakter Weise befaßten sich E. Abderhalden und F. Pregl[5]) mit der Zusammensetzung des adialysablen Teils. Ihr Material ist jedoch nicht ohne weiteres mit den Kolloiden von Salkowski und von Eliacheff, Sasaki, Ebbecke und Savarè vergleichbar. Sie extrahierten den trockenen Harnrückstand mit absolutem Alkohol und verarbeiteten die alkoholische Lösung; sie erhielten also später nach der Dialyse nur die alkohollöslichen Kolloide. Hier ergibt sich ein grundsätzlicher Unterschied vom alkoholunlöslichen Aminokohlenhydrat Salkowskis. Diesen Unterschied durch abweichendes chemisches Verhalten zu erhärten, finden sich jedoch in der betreffenden Abhandlung keine Angaben vor. Die Verfasser vermuteten eine Kohlenhydratgruppe — die Melaninabscheidung bei der Salzsäurehydrolyse war reichlich —; außer den durch Säurehydrolyse abgespaltenen Aminosäuren Glykokoll, Alanin, Leucin, Phenylalanin, Asparaginsäure und Glutaminsäure und einer geringen Menge Benzoesäure wurden keine chemisch definierbaren Substanzen gefaßt, namentlich wurden, wie die Autoren selbst betonen, der Basengehalt und die schwefelhaltigen Produkle nicht bestimmt. Auch fragt es sich, was

[1]) K. Sasaki, Beiträge z. chem. Physiol u. Pathol. 9, 386.
[2]) H. Přibram, Arch. f. klin. Med. 102, 457, 1911.
[3]) M. Ebbecke, diese Zeitschr. 12, 485, 1908.
[4]) M. Savarè, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. 9, 71 und 401.
[5]) E. Abderhalden und F. Pregl, Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 1905.

die beim Einengen der Hydrolysenflüssigkeit ausgefallenen Massen enthalten haben. Auch die wichtige Frage, ob Oxyproteinsäure oder verwandte Säuren zugegen waren, blieb offen.

W. Ginsberg[1]) scheint an diese Möglichkeit zu denken; die leichte Dialysierbarkeit vom Bariumsalz wird jedoch von Sasaki betont.

Abderhalden selbst räumt in der letzten (dritten) Auflage seiner „Physiologischen Chemie" seinem „Polypeptid" eine Sonderstellung ein (S. 649).

Auch das tierische Gummi Landwehrs hat nach diesem Forscher wie nach Baisch[2]) kolloidale Eigenschaften. Vom Urobilin ist in dieser Hinsicht noch nichts bekannt[3]); über das Urochrom sind die Meinungen geteilt[3]).

Es scheint uns an dieser Stelle von Nutzen zu sein, zu erörtern, was man eigentlich unter „kolloidalem Harnstickstoff" zu verstehen hat.

Der Begriff „Kolloid" ist bekanntlich kein scharf begrenzter. Das Hauptcharakteristikum ist immer noch das Verhalten bei der Dialyse (Bechhold[4]). Das adialysable alkoholunlösliche Aminokohlenhydrat Salkowskis ist wohl unbedingt als Kolloid zu bezeichnen.

Lichtwitz und Rosenbach[3]) benutzten die Eigenschaft der Kolloide, eine Schutzwirkung auszuüben gegen die Ausflockung der hochroten kolloidalen Goldlösung durch Elektrolyte, zur quantitativen Bestimmung der Harnkolloide (Zsigmondysche Goldzahl). Die Schutzkolloide des Harns sind leicht adsorbierbar. Eine Form dieser Adsorption, die Anreicherung im allgemeinen von Stoffen, welche die Oberflächenspannung des Wassers gegen eine andere flüssige Phase herabsetzen, in der Grenzschicht der zwei Flüssigkeiten (Gibbs Theorem) benutzten L. und R., um die Schutzkolloide zu entfernen. Sie wählten dazu die Winkelblechsche Benzinausschüttelung[5]) des Harns. Wird dieser jetzt dialysiert, so hat er keine Schutzwirkung mehr. In der Alkoholfällung Salkowskis finden sich die Schutzkolloide quantitativ; was sich im Alkohol löst, hat keine Schutzwirkung mehr. Die Träger der Schutzwirkung können Verfasser nicht nennen; Harnstoff, Harnsäure, Urochrom (nach Garrod) sind nicht beteiligt. Der Benzinschaum enthält Stickstoff.

Hier haben wir also außer dem Verhalten bei der Dialyse zwei neue Kriterien für dasjenige, was wir kolloidalen Harnstickstoff zu nennen haben: die Schutzwirkung auf die Goldlösung und die Anhäufung in der Grenzschicht von Wasser und Benzin. Beide Eigenschaften kommen zwar nicht den Kolloiden ausschließlich zu: die Substanzen, die ihre Träger sind, scheinen jedoch nach L. und R. mit den adialysablen Stoffen identisch zu sein.

---

[1]) W. Ginsberg, Beiträge z. chem. Physiol. u. Pathol. **10**, 411.

[2]) Baisch, Zeitschr. f. physiol. Chem. **18**, 19.

[3]) Lichtwitz und Rosenbach, Zeitschr. f. physiol. Chem. **61**, 112.

[4]) Bechhold, Die Kolloide usw. S. 2.

[5]) Winkelblech, Zeitschr. f. angew. Chem. **1906**, 1953.

Als K. Kojo[1]) später auf Anregung Salkowskis das etwas unsichere Alkoholverfahren zum Zweck der Carcinomdiagnose durch die Fällung der Kolloide mit Metallsalzen zu vereinfachen suchte, und ihn dazu der Umstand veranlaßte, „daß die kolloidalen N-Produkte im allgemeinen den Charakter von Oxyproteinsäure oder von sehr hochmolekularen Polypeptiden haben, diese aber vielfach unlösliche Metallverbindungen bilden", führte er ein neues Kriterium ein, dessen Berechtigung doch wohl der Beweisführung noch bedürfte. Die kolloidale Natur der Oxyproteinsäure ist ja nicht sicher gestellt. Das Resultat dieser Versuche mit mehreren Metallsalzen — es wurden Zink, Blei, Uran und Eisen verwendet — war ein Trias von Methoden: 1. die Fällung mit Bleisubacetat bei neutraler oder schwach alkalischer Reaktion, nach Vorbehandlung mit Baryt und Chlorbarium; 2. die Fällung mit Zinksulfat oder -chlorid bei schwach alkalischer Reaktion, nach Vorbehandlung mit Kalkmilch und Chlorcalcium; 3. die direkte Fällung mit Zinksulfat, -chlorid oder -acetat. Bei allen drei Methoden ergab sich beim Carcinom ein beträchtliches Plus an N gegenüber dem normalen Harn.

Beim Bleisubacetatverfahren . . .	im Mittel	3 %;	normal	1,3 %
„ Zinkverf. mit Vorbehandl. .	„ „	3,5 %;	„	1,43 %
„ direkten Zinkverfahren . . .	„ „	4,27 %;	„	1,73 %.

Auf die geringe Bedeutung der Elementaranalyse des Zinkniederschlags wies Kojo selbst hin: er fand auch Harnsäure und im von Zink befreiten Niederschlag nach dem zweiten Verfahren viel Asche, wovon ein Teil Ba. Die Anwesenheit von Schwefel wurde festgestellt. Den Beweis, daß Oxyproteinsäure oder hochmolekulare Polypeptide tatsächlich in den Fällungen enthalten sind, konnte K. aus der Elementaranalyse nicht erbringen. Auf anderem Wege sie nachzuweisen, hat er unterlassen.

Salkowski selbst meinte auf Grund der Ausführungen in seiner Arbeit, daß in der Alkoholfällung nach seiner ursprünglichen Methodik sicher Oxyproteinsäure enthalten war[2]). Er hat sie nicht isoliert, hat auch nicht zum Nachweis die Löslichkeitsverhältnisse des Bariumsalzes benutzt. Die Wahrscheinlichkeit, daß die Säure zugegen war, wird sicher geringer, wenn er, wie er später[3]) angibt, den Harn bei essigsaurer Reaktion einengt. Die Antoxyproteinsäure und die Alloxyproteinsäure sind wenigstens alkohollöslich[4]).

Die Säure hatte für ihn durch den Befund von Salomon und Saxl[5]) Bedeutung erhalten, daß die nach Ginsbergs[6]) etwas umgestalteten

---

[1]) K. Kojo, Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 416.

[2]) Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1910, 533.

[3]) Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1910, 1746.

[4]) Bondzynski, Dombrowski und Panek; Zeitschr. f. physiol. Chem. 46, 87 und 110, 1905.

[5]) Salomon und Saxl, Beiträge z. Carcinomforschung H. II.

[6]) Ginsberg, l. c.

Verfahren bestimmten gesamten Oxyproteinsäuren beim Carcinom in spezifischer Weise vermehrt sind.

Ausführlich besprach Salkowski[1]) noch einmal, wie das Alkoholverfahren zur Carcinomdiagnose verwertet werden könne, und kritisierte zugleich die Oxyproteinsäurebestimmung von Salomon und Saxl und das „Polypeptidverfahren" von diesen Autoren und F. Falk[2]). — Dieser Polypeptid-N wurde aus der Differenz von zwei Formoltitrierungen gefunden, erstens der des Harnes selbst, zweitens des Harnes nach Hydrolyse mit Salzsäure. Eine Vermehrung, parallel mit der der Oxyproteinsäure, wurde beim Carcinom festgestellt. Die absolute Menge dieses Polypeptids war im normalen Harn ungefähr dem Oxyproteinsäure-N gleich, im Carcinom-Harn jedoch größer; die Verfasser ziehen daraus den Schluß, daß beim Krebs noch andere Stoffe als Oxyproteinsäure in Peptidbindung ausgeschieden werden. — Hierzu soll bemerkt werden, daß die Stellung der Oxyproteinsäuren zu den Polypeptiden eine sehr unsichere ist (Abderhalden[3]). Nicht einmal der Nachweis unveränderter Aminosäuren ist einwandfrei gelungen. A. nennt das ganze Forschungsgebiet noch außerordentlich dunkel, und es fragt sich, ob bei der Säurespaltung der Oxyproteinsäuren tatsächlich formoltitrierbare Verbindungen entstehen.

Aus einer späteren Abhandlung Salkowskis[4]) ersehen wir, daß er bei der Wahl der fällenden Metallsalze sich von einem anderen Motiv führen ließ, als Kojo angibt, nämlich von der Adsorption von Kolloiden. Das ist aber, streng genommen, etwas anderes als „die Bildung unlöslicher Metallverbindungen mit Substanzen, die im allgemeinen den Charakter von Oxyproteinsäure oder von sehr hochmolekularen Polypeptiden haben".

Mehrere Forscher betätigten sich indessen mit der Bestimmung des „kolloidalen Harnstickstoffs" unter normalen und pathologischen Verhältnissen.

Das Alkoholverfahren Salkowskis wurde benutzt von L. Caforio, S. Mancini, anfänglich auch von Groß und Reh.

Caforio[5]) fand die Vermehrung nicht spezifisch für Krebs; auch Leberkrankheiten und Tuberkulose konnten dazu Anlaß geben. Fehlte die Vermehrung, so konnte Carcinom ausgeschlossen werden.

Mancini[6]) fand eine konstante Vermehrung beim Carcinom, eine Reihe anderer Krankheiten mit hohen Werten verringerten jedoch den praktischen Nutzen des Verfahrens.

Groß und Reh[7]) konnten mit der Methode keine zuverlässigen

---

[1]) Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1910, 1746.

[2]) Falk, Salomon und Saxl, Med. Klin. 1910, Nr. 13.

[3]) E. Abderhalden, Lehrb. d. physiol. Chem., 3. Aufl., S. 648.

[4]) Salkowski, Berl. klin. Wochenschr. 1910, 2297.

[5]) L. Caforio, Berl. klin. Wochenschr. 1911, 1843.

[6]) S. Mancini, Arch. f. klin. Med. 181, 388.

[7]) O. Groß und M. Reh, Med. Klin. 1911, Nr. 20.

Resultate erhalten; die Bleisubacetatmethode ergab auch nur einen mäßigen Wert für die Krebsdiagnose.

Mit dem Bleisubacetat-N befaßte sich S. Ishioka[1]), der die Resultate von Groß und Reh bestätigte; das Carcinom gab meistenteils etwas erhöhte Werte, andere Krankheiten, wie Typhus, Diabetes, Gelenkrheumatismus, Leberkrankheiten, Infektionskrankheiten zeigten jedoch dasselbe Verhalten.

H. Přibram und J. Loewy[2]) bestimmten den Blei-N in einer Reihe von Diabetesfällen in verschiedenen Stadien. Den Nachdruck legten sie auf die Störung im Eiweißstoffwechsel; die vermehrten Kolloide sind der Ausdruck dieser Störung und können vielleicht am Zustandekommen des Coma diabeticum schuld haben. Auch für die Prognose und für den Effekt der Therapie ist die Bestimmung wichtig.

An anderer Stelle[3]) neigen die Autoren dazu, den Ort der Bildung der fraglichen Kolloide wenigstens teilweise in den Darmtraktus zu verlegen: sie bilden jene noch hochmolekularen Spaltstücke des Nahrungseiweißes, die dem vollständigen Abbau entgangen sind und auf deren Menge die Sekretionsverhältnisse im Magendarmkanal und die Darmflora Einfluß ausüben. Ist die Sekretion der Verdauungsdrüsen gestört (Anacidität), so treten die Kolloide vermehrt auf; ist die Störung eine größere (Fehlen von Salzsäure sowohl wie von Pepsin), so wird ein großer Teil des Eiweißes gar nicht abgebaut, die Kolloide sind vermindert; bei Hyperacidität niedrige Werte, bei Enteritis und Indicanurie keine Kolloide. Weiter zeigen hohe Zahlen Leberkrankheiten, akute Nephritis, akute bakteriell verursachte fieberhafte Krankheiten (toxischer Eiweißzerfall), resorbierende Exsudate und Transsudate, Diabetes mellitus und insipidus.

M. Einhorn, M. Kuhn und J. Rosenbloom[4]) führten ihre eigene Technik des Zinkverfahrens aus: sie sättigten und wuschen mit Zinksulfat. Das Carcinom ergab stets Vermehrung des kolloidalen N, jedoch auch einige andere Krankheiten, welche, wie Verfasser sagen, jedoch leicht auszuschließen sind.

Welches Verfahren L. W. Rosowa[5]) benutzt hat, ist uns aus dem Referat im Centralbl. f. d. ges. inn. Med. (Bd. 4, S. 664) nicht ersichtlich. Die dort gefundenen Zahlen geben nur einen geringen Anhalt für den Wert als Krebsdiagnostikum.

Semenow[6]) sättigte den Harn mit Chlorzink. Er meinte, daß ein normales Verhältnis von Total-N und Koll.-N Carcinom ausschließt. Relativ vermehrten Koll.-N fand er auch bei anderen Krankheiten als Krebs.

[1]) S. Ishioka, Med. Klin. **1911**, Nr. 40.

[2]) H. Přibram und J. Loewy, Zeitschr. f. klin. Med. **77**, 284.

[3]) H. Přibram und J. Loewy, Münch. med. Wochenschr. **1912**, 238.

[4]) M. Einhorn, M. Kuhn, J. Rosenbloom, Arch. f. Verdauungskrankh. **17**, 557.

[5]) L. W. Rosowa, Russki Wratsch **1912**, 1532.

[6]) Semenow, Berl. klin. Wochenschr. **1913**, Nr. 31.

Nach Meidner[1]) hat die Bestimmung nach dem direkten Zinksulfatverfahren keinen Wert für die Krebsdiagnose. Bald war die Ausscheidung beim Carcinom niedrig, bald bei anderen, zu Marasmus führenden Krankheiten hoch.

Die Zusammensetzung des Zinkniederschlags nach Vorbehandlung mit Kalkmilch und Chlorcalcium untersuchten H. Thar und J. Beneslawski[2]). Sie bestimmten Harnsäure und Purinbasen. Spuren von NH_3 (0,03$^0/_0$ des Total-N) und von Harnstoff fanden sie vor. Nach Hydrolyse mit Schwefelsäure nach v. Slyke konnte kein Amino-N nachgewiesen werden. Nur im Niederschlag eines größeren Harnquantums (3 Liter) fand sich 0,075$^0/_0$ des Total-N als Amino-N.

Der gelöste Zinkniederschlag zeigte sich optisch inaktiv.

M. Kashiwabara[3]) gründete auf dem Harnsäuregehalt des Zinkniederschlags nach der direkten Methode Kojos eine quantitative Harnsäurebestimmung. Hierzu ist jedoch notwendig, die nach Zinksulfatzusatz entstandene saure Reaktion abzustumpfen, sonst entgeht etwas Harnsäure der Fällung. Für die Zink-Harnsäureverbindung konnte keine bestimmte Formel aufgestellt werden.

Für Salkowski selbst war das Auffinden von Harnsäure in der Zinkfällung eine Enttäuschung; daß die Purinbasen fast sämtlich mitgefällt werden, wies er als erster[4]) nach, zeigte auch zugleich zwei Wege, um zum „eigentlichen Zink-N“ doch noch zu gelangen.

Bevor wir zur Beschreibung unserer eigenen Versuche schreiten, sei nebenbei hier bemerkt, daß beim Anfang dieser letzteren die Kritik, welche E. Salkowski zu seiner eigenen Arbeit in den „Charité-Annalen“ geliefert hat, noch nicht erschienen war. Unsere Absicht war, die Brauchbarkeit der „direkten Zinksulfatmethode nach Salkowski-Kojo“ bei der Carcinomdiagnose zu prüfen. Neben Carcinomharnen sollten auch normale sowie andere pathologische Harne untersucht werden. Auch über den Gehalt an Harnsäuren wollten wir uns, im Anschluß an die Untersuchungen von Kashiwabara[5]) orientieren, wie über eventuelle andere Bestandteile des Niederschlags, dessen genaue Analyse noch ausstand. Es würde ja sicher der Mühe lohnen, zu erörtern, auf das Konto welcher N-haltigen Substanz im Zinkniederschlag die hohen Zahlen beim Carcinom zu schreiben seien. Bisher gelang es uns schon von

---

[1]) Meidner, Zeitschr. f. Krebsforschg. 9, 408, 1911.
[2]) H. Thar und J. Beneslawski, diese Zeitschr. 52, 435.
[3]) M. Kashiwabara, Zeitschr. f. physiol. Chem. 84, 223.
[4]) E. Salkowski, Charité-Annalen Jahrg. 37, S. 239, 1913.
[5]) M. Kashiwabara, Zeitschr. f. physiol. Chem. 84, 223.

einem Bestandteil der nicht dialysierenden Fraktion zu zeigen, daß sie in einigen Krebsfällen vermehrt war.

Zuerst folgen also einige Bestimmungen des Faktors Kojo-N $\times$ 100 : Total-N nach dem direkten Zinksulfatverfahren. Zur Technik bemerken wir folgendes: Der Total-N wurde stets nach Kjeldahl bestimmt in der von Sörensen und Pedersen[1]) beschriebenen Abänderung.

Bei der Zinkfällung benutzten wir immer eiweißfreien, filtrierten Harn. Waren Urate ausgefallen, so wurden diese zuvor durch gelindes Erhitzen gelöst. 100 ccm wurden mit 20% Natriumcarbonat (kryst.) schwach alkalisch gegenüber Lackmus gemacht, darauf wurden 5 ccm 10%ige Zinksulfatlösung zugesetzt. Wiederum schwache Alkalisierung und 5 ccm Zinksulfat. Es wurde in dieser Weise fortgefahren, bis 30 ccm Zinksulfat verbraucht waren und das Ganze schwach alkalisch reagierte. Nach den letzten Portionen Zinksulfat braucht man meistens kein Natriumcarbonat mehr zuzusetzen. Am folgenden Tage, bisweilen auch noch am selben Tage nach 1 bis mehreren Stunden wurde filtriert durch S. und S. 597 und mehrere Stunden mit destilliertem Wasser gewaschen, bis das Filtrat mit Bromlauge keinen N mehr entwickelte und keine Trübung mehr gab mit $AgNO_3 + HNO_3$. Die Filterränder wurden besonders beachtet, das Filter immer gefüllt gehalten. Man braucht 400 bis 500 ccm Wasser. Filter mitsamt Niederschlag wurden mit 20 ccm Schwefelsäure und 1 bis 2 ccm 10%igem $CuSO_4$ vernichtet. Immer wurden Doppelbestimmungen gemacht.

Es ist nicht richtig, weniger als 30 ccm Zinksulfat zu verwenden. Ein darauf gerichteter Versuch mit 20 ccm ergab einen Niederschlag mit 21,36 mg N, zu dem sich durch erneute Fällung des eingeengten Filtrats mit 40 ccm Zinksulfat noch 5,6 mg N gesellten.

Doch gelingt es auch mit 30 ccm nicht ein Filtrat zu erhalten, in dem kein N mit Zinksulfat mehr fällbar ist: im Niederschlag fanden sich 24,36 mg N, in der Fällung des Filtrats mit 30 ccm Zinksulfat noch 2,8 mg N. Auch Vermehrung des Fällungsmittels auf 50 ccm ergab noch Zink-N im Filtrat.

---

[1]) Sörensen und Pedersen, Zeitschr. f. physiol. Chem. 39, 513, 1903.

Auch ergab sich die Tatsache, daß eine Wiederholung der Fällung, nach Lösen des Niederschlags in Schwefelsäure, Neutralisation mit Natronlauge und erneuter Zusatz von 30 ccm Zinksulfat und Natriumcarbonat keine Bedeutung hat für die Beseitigung von eventuell mit eingeschlossenem Harnstoff; die N-Zahlen blieben dieselben.

Für das Verhältnis $\frac{\text{Kojo-N} \times 100}{\text{TN}}$ erhielten wir nun in 20 normalen Harnen: 2,4, 2,15, 2,3, 3,1, 1,63, 1,95, 2,82, 1,73, 1,75, 1,74, 2,26, 3,15, 2,67, 2,85, 2,39, 2,13, 2,44, 2,11, 2,0, 1,88.

Im normalen Harn fanden wir also höhere Werte als Kojo. In 13 von 20 Fällen mehr als 2%.

Die dritte und vierte Zahl stammen von derselben Versuchsperson. Das spezifische Gewicht war 1007 bzw. 1009. Das Verhältnis kann also, in Übereinstimmung mit Meidners[1]) Ergebnissen, beim selben Individuum beträchtlich schwanken.

Jetzt folgen 8 Harne von Lungentuberkulose in verschiedenen Stadien:

1. J. Fieberfrei; Anfangsstadium; keine Komplikationen 1,5 %
2. S. Fieber; weit vorgeschrittener Fall; Albuminurie 2,49%
3. A. Fieberfrei; Anfangsstadium; keine Komplikationen 1,54%
4. S. Fieber; weit vorgeschrittener Fall; Laryng. tub.; Albuminurie 1,72%
5. E. Fieberfrei; Anfangsstadium; resorbier. pleur. Exsudat 2,51%
6. T. Fieberfrei; weit vorgeschrittener Fall; Laryng. tub.; Albuminurie . . . . 1,8 %
7. B. Fieber; weit vorgeschrittener Fall; Laryng. tub.; periartic. Abscesse; Albuminurie 2,69%
8. O. Fieberfrei; weit vorgeschrittener Fall; Laryng. tub.; Rippenkaries; Albuminurie . . . . 2,7 %

Für die Diagnose der Lungentuberkulose oder ihrer verschiedenen Stadien Folgerungen zu schließen, geben die Zahlen keinen genügenden Anhalt.

Ferner fanden wir bei einem Falle von:

1. de B. Akute Phosphorvergiftung mit letalem Ausgang 5,42%

[1]) Meidner, l. c.

2. V. Unterernährung; durch Ruhe und Arsen sanatio completa . . . . 3,7 %
3. S. Unterernährung; Dyspepsia nervosa . . . . . 1,53 %
4. v. d. H. Obstipatio alvi chron. . . . . 3,8 %
5. G. Diarrhoea chron.; Achylia gastrica? . . . . . 1,3 %
6. v. T. Icterus chron. Bei der Probelapar. norm. Gallenbl.; keine Pankreatitis, kein Carcinom, kein Gallenstein 1,03 %
7. v. B. Benigne Pylorusstenose (vor der Probelaparotomie) . . . . 1,55 %
8. P. Ulcera cruris; Anämie; Carcinoma ventriculi? . 2,4 %
9. M. Carcinoma ventriculi.
   1. Tag nach einer schweren Hämatemesis . . 3,05 %
   7. Tag nach der Blutung . . . . 2,43 %
10. Kl. Adenocarcenoma ventriculi; Metastasen in den reginären Drüsen; wenige Tage vor dem Tode . . 1,5 %
    Bei Wiederholung der Bestimmung . . . . 2,1 %
11. X. Carcinoma coli (Harn enthält Urob. und etwas Gallenfarbstoff) . . . . 2,6 %
12. Vr. Adenocarcinoma recti; nach der Bestimmung. Perfor. n. d. Blase, Cystitis; baldiger Exitus; bei der Sektion kleine Abscesse in den Nieren; Atrophia lienis . . . . 7,6 %

Beachtenswert unter diesen Fällen ist:

1. Die Phosphorvergiftung. Bekanntlich war Salkowskis erster Fall mit 28,1 % eine akute gelbe Leberatrophie bei einer Schwangeren.

2. Die niedrigen Zahlen sub 10. Beide waren genau stimmende Triploanalysen. Ein Gegensatz dazu ist Fall 12.

Die Behauptung von Caforio[1]) und von Semenow[2]), daß eine niedrige Zahl für den Koll.-N ohne weiteres Carcinom ausschließt, kann, wenigstens für das direkte Zinksulfatverfahren, nicht aufrecht gehalten werden.

3. Der Kontrast zwischen dem 2. und 3. Fall.

Um einen Einblick in den Anteil zu gewinnen, den die Harnsäure am Kojo-N hat, wurde nach Kashiwabara[3]) der

[1]) Caforio, l. c.
[2]) Semenow, l. c.
[3]) Kashiwabara, l. c.

gut ausgewaschene Zinkniederschlag von 100 ccm Harn in 5 bis 10 ccm 30%iger Essigsäure gelöst, das Volumen auf 150 bis 200 ccm gebracht, das Zink durch H_2S, mit nachfolgendem Aufkochen und heißem Filtrieren, entfernt und das Filtrat auf 10 bis 15 ccm eingeengt. Nach Zusatz von 6 bis 8 Tropfen 25%iger HCl blieb die Probe bis zum nächsten Tag stehen. Von der abfiltrierten Harnsäure, mit ± 60 ccm 0,5% H_2SO_4 gewaschen, wurde der N nach Kjeldahl bestimmt. Wie der parallel bestimmte N der ganzen Zinkfällung (Kojo-N) wurde auch dieser Harnsäure-N (HN) in Prozenten des Total-N (TN) ausgedrückt.

Fall	$\frac{\text{Kojo-N} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{HN} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{(\text{Kojo-N} - \text{HN}) \times 100}{\text{TN}}$
1. L. Echinococcus hepatis	3,63	1,22	2,41
" " 7 Tage später	3,01	1,37	1,64
2. L. Hyperplasia hepatis	2,21	1,08	1,13
3. E. Lues hepatis	2,13	0,97	1,16
4. B. Graviditas 2. Monat	2,65	1,12	1,53
5. H. Gicht	4,08	2,06	2,02
" 1. Tag einer diagn. Atophankur	5,61	3,77	1,84
6. M. Coma diabeticum bei einem Mädchen von 10 Jahren; letaler Ausgang	1,65	0,59	1,06
7. Sch. Carcinoma laryngis	2,51	1,15	1,36
8. C. Carcinoma nasi	2,66	1,43	1,23

Auffallend ist der hohe Wert bei Gicht, auch nach Abzug der Harnsäure. Die niedrige Zahl beim Coma diabeticum ist in Übereinstimmung mit Přibram und Loewy[2]), welche fanden, daß in den schwersten Diabetesfällen eine Abnahme des Blei-N zu erwarten ist.

Daß beim selben Individuum $\frac{(\text{Kojo-N} - \text{HN}) \times 100}{\text{TN}}$ durchaus nicht konstant zu sein braucht, ersieht man aus dem 1. Fall, wo zwischen den zwei Bestimmungen das Krankheitsbild sich nicht wesentlich geändert hatte.

In einer weiteren Reihe von Fällen bestimmten wir nebeneinander TN, Kojo-N, HN nach Kashiwabara, teilweise auch nach Folin im Harn selbst, und den Purinbasen N (PN) nach

---

[1]) Přibam und Loewy, Zeitschr. f. klin. Med. 77, 284.

Krüger-Schmid[1]), im Filtrat (75 ccm) der Harnsäurebestimmung nach Kashiwabara, das zu diesem Zweck mit 33% NaOH alkalisiert und darauf mit Essigsäure neutralisiert wurde. Die Flüssigkeit wurde darauf erhitzt bis 70 bis 80°, 1 ccm 10%ige Essigsäure zugesetzt, darauf 10 ccm einer Braunsteinaufschwemmung (aus $KMnO_4$ und Alkohol). Es wurde kurze Zeit durchgeschüttelt, 10 ccm 40%iges Natriumbisulfit zugesetzt, welches das Zuviel an Braunstein löst; jetzt Zusatz von 5 bis 10 ccm 10%igem Kupfersulfat, Aufkochen während 3 Minuten; die schwarzbraune Fällung wurde filtriert und gewaschen, darauf der N nach Kjeldahl bestimmt.

Kojo-N — (HN + PN) wurde ZnN (der eigentliche Zink-N) genannt.

Fall	$\frac{\text{Kojo-N} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{HN} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{PN} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{ZnN} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{ZnN} \times 100}{\text{Kojo-N}}$
1. L. Echinococcus hepat. (ders. Fall wie oben)	3,01	1,37	0,08	1,56	52,1
2. H. Gicht; ders. Fall wie oben nach der Atophankur . . .	3,5	1,2	0,05	2,25	64,2
3. B. Tbc. pulm., lar. periartic. Abscesse; Ulcera crur. . .	2,69	{ 1,3 0,8? 1,34 (Folin)	0,32	1,07	39,8
4. v. d. H. Obstipatio alvi chron.	2,22	0,91	0,2	1,11	50,0
N. wenigen Tagen wiederholt	2,52	1,21	0,17	1,14	45,2
5. B. Tumor malignus pharyngis et laryngis	3,56	2,1	0,26	1,2	33,7
6. R. Carcinoma oesophagi . .	1,11	0,53	0,14	0,44	30,6
Nach 7 Tagen wiederholt .	1,2	0,34	0,11	0,75	62,5
7. E. Carcinoma pylori (Probelaparotomie)	2,66	1,47	0,18	1,01	37,9
8. T. Carcinoma ventriculi . .	2,17	1,37	0,17	0,63	28,6
Später wiederholt	3,35	1,57	0,36	1,42	42,1

Der geringe Wert beistehender Zahlen für die Klinik des Carcinoms springt sofort ins Auge. Im 7. ein mittlerer, im 6. und 8. Fall eher ein niedriger ZnN.

Die höchste Zahl ergibt der Gichtfall.

Der Meinung Thars und Beneslawskis[2]) entgegen ist im Zinkniederschlag außer Harnsäure und Purinbasen sicher noch ein großer Prozentsatz anderer N-haltiger Verbindungen enthalten.

---

[1]) Krüger-Schmid, Zeitschr. f. physiol. Chem. 45, 1905.

[2]) Thar und Beneslawski, l. c.

Als **Salkowski** in den Charité-Annalen seine Erfahrungen über die Zusammensetzung des Kojo-Niederschlags bekanntgegeben hatte, bestimmten wir in drei neuen Fällen wieder TN, Kojo-N, HN, PN, N im Filtrat der Harnsäure und ZnN, neben welchen Werten wir auch den Zink-N nach den zwei von **Salkowski** beschriebenen Verfahren ermittelten (ZnN S_I und ZnN S_{II}).

ZnN S_I wird gefunden, indem man die auskrystallisierte Harnsäure abfiltriert, den N im Filtrat bestimmt.

ZnN S_{II} ist eine Differenzbestimmung von Kojo-N minus HN. Sie weicht in unwesentlichen Punkten von unserer Methodik ab.

Will man die Purinbasen in Rechnung bringen, so zieht man nach **Salkowski** von beiden Werten noch 1,1 mg N pro 100 ccm Harn ab.

Wir drücken alle Werte wiederum in Prozenten von TN aus.

Fall	$\frac{\text{Kojo-N}\times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{HN}\times 100}{\text{TN}}$	Filtrat der Harnsäure	$\frac{\text{PN}\times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{ZnN}\times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{ZnN } S_I\times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{ZnN } S_{II}\times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{ZnN}\times 100}{\text{Kojo-N}}$
Normal	2,95	1,3	1,88	0,13	1,52	1,85	1,77	51,5
Carcinom der Zungenbasis und des Larynx	3,13	1,45	1,14?	0,30	1,38	1,39 (Harns.-N 1,46)	—	46,7
Carcinoma entestin. occult. (?) .	2,67	1,34 Folin 1,48	1,06	0,14	1,19	1,06 (Harns.-N 1,37)	1,25	40,3

Der normale Harn hatte also nach allen drei Methoden den höchsten Zink-N. Von einem erhöhten Wert beim Carcinom ist auch hier nichts zu bemerken.

Die Harnsäurebestimmungen nach **Kashiwabara** und nach **Salkowski** I lieferten gut stimmende Zahlen.

Die Verfahren gestalten sich übrigens sehr ähnlich. Die Harnsäurebestimmung nach **Folin** im Harn selbst ergab im 3. Fall ebenso wie in zwei obengenannten Fällen eine etwas höhere Zahl. Wahrscheinlich entgeht doch etwas Harnsäure der Fällung.

Der Kojo-Niederschlag enthält also außer Harnsäure und Purinbasen noch andere N-haltige Substanzen, deren N schwankt zwischen 0,4 und 2,25 (im Mittel 1,17) Prozent des Gesamt-N.

Die hohen Werte decken sich in unseren Fällen durchaus nicht mit den Carcinomen, diese zeigen vielmehr mittlere Zahlen: bei zwei Tumoren den Mittelwert, bei zwei anderen etwas größere, bei den drei übrigen niedrigere Zahlen.

Drückt man den N der unbekannten Stoffe aus in Prozenten des Kojo-N, so erhält man die Werte der Kolumne $\frac{\text{ZnN} \times 100}{\text{Kojo-N}}$. Die Zahlen schwanken zwischen 28,6 und 64,2%.

Nach diesem Ergebnis hätten wir die Arbeit sistieren können. Die Resultate waren nicht ermutigend. Noch eine Möglichkeit gäbe es vielleicht, die im Kojo-Niederschlag gefällten Substanzen für die Carcinomdiagnose zu verwerten, nämlich wenn nachzuweisen wäre, daß unter diesen eine Substanz sich befindet, die qualitativ oder quantitativ für den Krebs charakteristisch ist. Es wäre erstens an die rein kolloidalen Substanzen zu denken, weiter an die Oxyproteinsäure Salomons und Saxls, event. auch an den Polypeptid-N von Falk, Salomon und Saxl.

Die erste Aufgabe war also, den rein kolloidalen, d. h. adialysablen Anteil des Kojo-N zu ermitteln. Hier ergab sich sofort eine interessante Tatsache. Es fand sich bei 4 Krebsen eine deutliche Vermehrung gegenüber normalen oder anderwärts kranken Individuen. Nach den Untersuchungen von Ebbecke[1]), der nativen Harn in Schilfschläuchen gegen Aq. dest. dialysierte, war dieses Resultat nicht zu erwarten. Fand doch dieser Autor in einem Fall von Carcinoma ventriculi und in 3 Fällen von Carc. prost. keine hohen Werte.

Zur Technik bemerken wir folgendes:

Den gewaschenen Kojo-Niederschlag von 100 ccm Harn spritzten wir mit Aq. dest. in einen Kolben und brachten ihn durch vorsichtigen Zusatz von 30% Essigsäure zur Lösung. Wir vermieden stets einen Überschuß an Säure. Das Gesamtvolumen war jetzt etwa 100 ccm. In 7 Schläuchen 579 S. u. S. wurden diese während 48 Stunden gegen strömendes Wasser dialysiert. Die Schläuche waren geprüft, einmal mit 15 ccm Seidenpeptonlösung, ein andermal mit 15 ccm Casein-

[1]) Ebbecke, diese Zeitschr. 12, 485, 1908.

lösung nach dem von uns (S. und T.)[1]) angegebenen Verfahren. Sie wurden, mit Gummistöpseln und Bindfaden fest verschlossen, in dazu geeigneten kleinen Töpfen zu 7 zusammengestellt. Das Außenwasser strömte am Boden ein. Der Gesamtinhalt wurde nach 48 Stunden ausgegossen, die Hülsen mit etwas Wasser nachgespült, der Inhalt darauf auf dem Wasserbade eingeengt und der N-Gehalt nach Kjeldahl bestimmt.

Es ist nicht zulässig, die Harnsäure erst zu entfernen; beim Einengen mit HCl tritt wohl Zersetzung der bezüglichen Kolloide ein; wenigstens waren die N-Werte der adialysablen Substanz nach derartigen Bestimmungen um vieles kleiner als im selben Niederschlag ohne Entfernung der Harnsäure.

Fraglich ist, ob es vorteilhaft ist, den Niederschlag auf dem Filter mittels 30% Essigsäure zu lösen, wobei man das Filtrat immer wieder auf das Filter gießt und schließlich mit wenig Wasser wäscht. Man kommt so mit weniger Schläuchen aus, das Filter färbt sich jedoch gelblich und wir wissen nicht, ob auf diese Weise nicht Kolloide im Papier adsorbiert bleiben.

Fall	$\frac{\text{Kojo-N} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{Adial. N} \times 100}{\text{TN}}$	$\frac{\text{Adial. N} \times 100}{\text{Kojo-N}}$
Gesunde Versuchsperson .	2,87	0,16	5,57
" "	2,35	0,12	5,10
" "	2,13	0,10	4,69
Perniziöse Anämie . . .	2,38	0,18	7,56
Carcinoma laryngis . . .	2,51	0,63	21,11
" " . . .	2,51	0,97	38,64
" nasi	2,66	0,58	21,80
" ventriculi . .	3,35	0,36	10,74

Während also der Kojo-N nichts Auffälliges darbietet, erfährt sein adialysabler Anteil eine deutliche Vermehrung beim Carcinom.

Die Anzahl der beobachteten Fälle ist noch sehr gering; wir sind damit beschäftigt, sie zu erweitern, machen aber keinen Anspruch auf die Alleintätigkeit auf diesem Gebiete.

[1]) Swart und Terwen, Münch. med. Wochenschr. **1914**, 603. Um einer eventuellen Alkalischädigung der Hülsen vorzubeugen, benutze man, in Abweichung von der a. a. S. gegebenen Vorschrift, zur Lösung der 5 g Casein 8,8 ccm $^{n}/_{5}$-Na_2CO_3-Lösung. Man erhält in dieser Weise eine neutrale Flüssigkeit.

Nachtrag zu den Säuredissoziationskonstanten der Kohlenhydrate.

Von

L. Michaelis.

(Eingegangen am 11. Juni 1914.)

Vor einiger Zeit beschrieb ich eine elektrometrische Methode zur Bestimmung der Dissoziationskonstanten sehr schwacher Säuren, mit Hilfe deren ich gemeinschaftlich mit Rona zuerst einige Kohlenhydrate und mehrwertige Alkohole, dann insbesondere auch α- und β-Methylglucosid untersuchte [1] [2]. Faßt man die in diesen beiden Arbeiten erhobenen Gesetzmäßigkeiten zusammen, so ergibt sich: Eine Säuredissoziationskonstante ist beim Äthylalkohol noch nicht nachweisbar, aber schon beim Äthylenglykol, und sie steigt mit zunehmender Hydroxylzahl. Die Pentosen und Hexosen sind merklich stärkere Säuren; die beiden Methylglucoside sind wieder sehr viel schwächer, wie zu erwarten war, und zwar ist das α-Methylglucosid ein wenig schwächer als das β-Methylglucosid, was zu einer wahrscheinlichen Konstitutionsbestimmung der beiden Glucoside benutzt werden konnte.

Von Di- und Trisacchariden waren die reduzierenden mit offener Aldehydgruppe merklich stärker als die nichtreduzierenden. Hier fällt nun in unseren früheren Bestimmungen ein übertrieben hoch erscheinender Wert der Maltose auf. Es hat sich nun herausgestellt, daß das damals benutzte Maltosepräparat noch nicht ganz rein war. Es wurden deshalb neue Bestimmungen hiermit vorgenommen.

Die Maltose wurde aus dem bei Kahlbaum käuflichen Präparat umkrystallisiert. Eine gesättigte Lösung in etwa 70%igem Alkohol wurde unter einem Exsiccator über Äther gestellt, der überdestillierte Äther täglich einmal durch Rühren

[1] L. Michaelis und P. Rona, diese Zeitschr. 49, 232, 1913.

[2] L. Michaelis, Ber. 46, 3683, 1913.

mit der Lösung vermischt und so eine sehr langsame, schöne Krystallisation der Maltose in kleinen, sehr harten Krystalldrusen erreicht, die der Gefäßwand fest anklebten. Nach Erreichung genügender Ausbeute wurde die Flüssigkeit abgegossen, die Krystalle mit Äther nachgewaschen und dann abgekratzt und lufttrocken gemacht. Mit drei verschiedenen, derart dargestellten Präparaten, von denen das eine nochmals auf gleiche Weise umkrystallisiert wurde, wurden auf die früher beschriebene Weise Bestimmungen der Dissoziationskonstanten ausgeführt.

Die Messungen ergaben:

Versuche mit Präparat Nr. 1.

Die Lösung enthielt 0,1 n-KCl.

Konz. der NaOH	[OH'] derselben	Konz. der Maltose	°C Temp.	Millivolt	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH']	Δ[OH']	k
0,00944	0,0085	0,1686	18	870,0	10,72	3,38	$1{,}91 \cdot 10^{-11}$	$4{,}16 \cdot 10^{-4}$	0,0081	$9{,}6 \cdot 10^{-13}$
0,00944	0,0085	0,1686	18	869,5						

Versuche mit Präparat Nr. 2.

Die Lösung enthielt 0,86 n-KCl.

Konz. der NaOH	[OH'] derselben	Konz. der Maltose	°C Temp.	Millivolt	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH']	Δ[OH']	k
0,01042	0,00813	0,0801	18	892,0	11,10	3,00	$8{,}0 \cdot 10^{-12}$	$1{,}0 \cdot 10^{-3}$	0,00713	$7{,}8 \cdot 10^{-13}$
0,01042	0,00813	0,0801	18	892,5						
0,01042	0,00813	0,0801	18	891,0						
			Mittel	892,0						

Der Gehalt an KCl war hier sehr hoch, und die Annahme totaler Dissoziation des Maltose-Natrium-Salzes ist gewiß nicht mehr berechtigt. Unter Annahme, daß dieses nur zur Hälfte dissoziiert sei, würde sich statt dessen ergeben: $k = 8{,}7 \cdot 10^{-13}$.

Versuche mit Präparat Nr. 3.

Die Lösung enthielt 0,1 n-KCl.

Konz. der NaOH	[OH'] derselben	Konz. der Maltose	°C Temp.	Millivolt	p_H	p_{OH}	[H˙]	[OH']	Δ[OH']	k
0,00841	0,00706	0,1262	21	877,0	10,78	3,23	$1{,}66 \cdot 10^{-11}$	$5{,}87 \cdot 10^{-4}$	0,0065	$9{,}0 \cdot 10^{-13}$
0,00841	0,00706	0,1262	21	877,0						

Wir dürfen also den Durchschnittswert

$$k = 9{,}0 \cdot 10^{-13}$$

als den wahrscheinlichsten Wert annehmen. Derselbe steht nunmehr in befriedigender Übereinstimmung mit der Erwartung, indem die Säurenatur der Maltose gleich oder sogar etwas größer als die der reduzierenden Mono- und Disaccharide ist, aber nicht so übertrieben groß, als es früher schien ($18 \cdot 10^{-13}$). Es ist nämlich nunmehr k für:

Glucose	$6{,}6 \cdot 10^{-13}$
Fructose	$8{,}8 \cdot 10^{-13}$
Reduzierende Disaccharide:	
Lactose	$6{,}0 \cdot 10^{-13}$
Maltose	$9{,}0 \cdot 10^{-13}$
Nichtreduzierende Zucker:	
Saccharose	$2{,}4 \cdot 10^{-13}$
Raffinose	$1{,}8 \cdot 10^{-13}$
α-Methylglucosid	$1{,}97 \cdot 10^{-14}$
β-Methylglucosid	$2{,}64 \cdot 10^{-14}$

Zur Analyse des Calciums im Kot und Harn.

Von

R. von der Heide.

(Aus dem tierphysiologischen Institut der Kgl. Landwirtschaftlichen Hochschule Berlin.)

(Eingegangen am 12. Juni 1914.)

Die Handbücher der biochemischen Arbeitsmethoden[1])[2]) bringen für die Bestimmung des Calciums in Kot und Harn in der Regel zwei Methoden in Vorschlag, nämlich die Abscheidungen als Calciumoxalat und dessen Überführung in die Wägeform CaO und die Fällung als Calciumsulfat in alkoholischer Lösung nach H. Aron[3]). Das Aronsche Verfahren ist sehr verlockend; denn es erlaubt z. B. bei der „nassen Veraschung" mit Salpetersäure-Schwefelsäure direkt ohne vorherige Trennung der Phosphorsäure und des Eisens, wodurch die Oxalatmethode so langwierig wird, das Calciumsulfat zu gewinnen. So schreibt Thierfelder[2]) für die Kotanalyse nach Aron vor: „Die Lösung der organischen tierischen Substanz wird nach dem Erkalten mit etwas Wasser verdünnt, kurz aufgekocht, in ein Becherglas gebracht, unter Umrühren mit dem 4 bis 5 fachen Volumen Alkohol versetzt und dann auf dem Wasserbad erwärmt, bis sich der Niederschlag flockig abgesetzt hat. Nach 6 bis 12 Stunden filtriert man den Niederschlag ab, wäscht ihn mit 80 bis 90%-

[1]) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden von Abderhalden 1, 413, 1910. — Der Harn, von Neuberg, 1, 169, 1911. — Handb. d. Biochem. 1, 13, 1909. — Analyse des Harns, Neubauer-Hupperts Lehrb. 1, 168.

[2]) Hoppe-Seilers Handb. d. chem. Analyse von Thierfelder, 1909, 544.

[3]) Angegeben von Aron in seiner ersten Publikation: „Eine einfache Methode zur Bestimmung des Calciums in organischer Substanz, diese Zeitschr. 4, 268, 1907 (nicht, wie in Abderhaldens Handb. vermerkt ist, 1908).

igem Alkohol aus und verascht im gewogenen Platintiegel. Noch besser sammelt man den Niederschlag im Goochtiegel und trocknet bei 105°."

Dies ist ein ersichtlich einfacher Weg, den jeder Analytiker gern einschlagen wird, und der bei nassen Veraschungen wahrscheinlich auch bisher mit Vorliebe gewählt worden sein dürfte. Leider steht jedoch die Zuverlässigkeit dieser Methode im umgekehrten Verhältnis zu ihrer Handlichkeit, und die vorliegende Arbeit dürfte überzeugend dartun, daß die Mehrzahl der bei biochemischen Arbeiten auf diesem Wege gewonnenen Calciumbefunde, soweit wenigstens dabei die für Kot und Harn zutreffenden Verhältnisse vorlagen, einer Revision unterzogen werden muß.

Nicht ohne Interesse dürfte es übrigens sein, für welche Art Untersuchungen in den verschiedenen oben zitierten Werken die Aronsche Methode Eingang gefunden hat.

In Arons[1]) Arbeit (in Gemeinschaft mit Frese) über „Verwertbarkeit verschiedener Formen des Nahrungskalkes zum Ansatz beim wachsenden Tier" wird nicht nur der Kalkgehalt der Milch und des Fleisches „nach der jüngst von Aron[2]) mitgeteilten Methode ermittelt", sondern auch der Kalk im Harn[3]) und sogar im Kot bestimmt; S. 197 steht: „5 g Kot werden in einer Platinschale vorsichtig verascht, der Rückstand mit Salzsäure ausgezogen und zur Abscheidung von Kieselsäure auf dem Wasserbade zur Trockene gebracht, wiederum mit Salzsäure behandelt, vom unlöslichen Niederschlag abfiltriert und mit Salzsäure und Wasser nachgewaschen, das Filtrat unter Zusatz einiger Tropfen Schwefelsäure zum Verjagen der Salzsäure eingedampft, der Rückstand mit Schwefelsäure und destilliertem Wasser aufgenommen und das Calcium als Sulfat mit Alkohol gefällt."

Kurze Zeit vor dieser Veröffentlichung haben Aron und Sebauer[4]) in der Arbeit: „Bedeutung der Kalksalze für den

---

[1]) Diese Zeitschr. **9**, 194, 1908.

[2]) Diese Zeitschr. **4**, 268, 1907.

[3]) Diese Zeitschr. **9**, 195. (Hier die erste Änderung in der Bestimmung, die im übrigen genau mit der Methode im Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden übereinstimmt.)

[4]) Diese Zeitschr. **8**, 19, 1908.

wachsenden Organismus“ angegeben, „daß im Blut, Fleisch und Gehirn der Kalk nach Aron bestimmt sei“. Auf Grund dieser drei Arbeiten ist nunmehr in den verschiedenen Werken die Bestimmung des Calciums als Calciumsulfat nach Aron beschrieben.

Nach einer privaten Mitteilung hat als erster im Sommer 1908 der leider kürzlich verstorbene Kollege Dr. Glikin den Verfasser der Methode darauf aufmerksam gemacht, daß seine Kalkbestimmung irreführende Resultate gäbe.

1910 schreibt Magnus-Levy[1]), daß, wenn man nach Aron das $CaSO_4$ direkt aus der durch Verbrennung mit Schwefelsäure erhaltenen Lösung der Asche mit Alkohol fällt, bei größerem (?) Eisengehalt etwas (?) Eisen in den Gipsniederschlag eingeht.

L. Fränkel, der in Neuberg, „Der Harn“ die Untersuchung der anorganischen Harnbestandteile behandelt, kannte diese Angabe von Magnus-Levy, denn er zitiert sie S. 170, nachdem er die Aronsche Kalkbestimmung aufs genaueste beschrieben hat.

1911 geben Rona und Takahashi[2]) an, „die Bestimmung des Calciums in Form von Calciumsulfat durch Fällung mit Alkohol in schwefelsaurer Lösung ist in calciumarmen und alkalireichen Flüssigkeiten nicht zu empfehlen“.

Kurz bevor diese meine Arbeit experimentell abgeschlossen wurde, gab Gutmann[3]) an, daß das Verfahren von Aron nur dann gut geeignet sei, „wenn die Menge der Alkalien eine bestimmte Konzentration nicht überschreite, da andernfalls Alkalien bei der Alkoholfällung mitgerissen und mitbestimmt werden“.

Schwankende Ergebnisse gelegentlich einiger nach Aron ausgeführten Ca-Bestimmungen im Schweinekot veranlaßten mich, das Verfahren einer ausführlichen kritischen Bearbeitung zu unterziehen. Wie nachstehend gezeigt wird, dürften die dabei gemachten Beobachtungen es ratsam erscheinen lassen, daß die große Anzahl von chemischen Werken, in welche diese Methode übergegangen ist, wenigstens für Kot und Harn das Aronsche Verfahren in seiner bisherigen Form ausschalten. Es

[1]) Diese Zeitschr. **24**, 366.
[2]) Diese Zeitschr. **31**, 338.
[3]) Diese Zeitschr. **58**, 470, 1914.

scheint nämlich, daß die von Aron anläßlich seiner Untersuchungen von Knorpel, Casein und Milch[1]) gemachten Beobachtungen ohne die nötige Überprüfung vorzeitig verallgemeinert worden sind.

Zunächst sei auf eine Ungenauigkeit in den oben zitierten Angaben über die Ausführung des Verfahrens hingewiesen insofern, als bei der nassen Veraschung von Koten der Pflanzenfresser neben dem ausgefallenen Gips auch recht erhebliche Mengen von Sand in der Aufschlußflüssigkeit vorhanden sind, die bei sklavischer Befolgung jener Vorschrift als Gips zur Berechnung gelangen würden. Auch gallertartige Kieselsäure entsteht bei diesen Aufschlüssen. 3 g Schweinekot lieferten mir bis zu 0,1520 g an Sandkörnchen und Kieselsäure. In 500 ccm Menschenharn fand ich 0,04 bis 0,09 g, in 500 ccm Rinderharn wurden gefunden 0,06 bis 0,13 g.

Man darf also die unlöslichen Anteile nicht ohne weiteres für Calciumsulfat halten, sondern muß nach Zugabe von etwas Salzsäure und Aufkochen von Ungelöstem heiß abfiltrieren, mit heißer Salzsäure nachwaschen, um das größtenteils in der Tat schon ausgefallene Calciumsulfat in Lösung zu bringen; schließlich muß man das zu voluminös gewordene Filtrat zur Entfernung der bei der späteren Wiederausfällung des Calciums störenden Salzsäure auf dem Wasserbad möglichst konzentrieren.

Ebenso bedenklich als diese Lücke in den Angaben der Methode, die zwar auch ein nichtspezialisierter, jedoch vorsichtiger Analytiker, freilich nur bei größeren Mengen von körnigem Sand, rechtzeitig entdecken wird, erscheint die Vorschrift, das bei 105° entwässerte Calciumsulfat zur endgültigen Wägung zu bringen.

Verhalten von $CaSO_4 + 2H_2O$ bei höheren Temperaturen.

Treadwell[2]) schreibt ohne Kommentar schwaches Glühen des Niederschlages behufs Wägung vor. In der Tat ist nur geglühtes $CaSO_4$ völlig wasserfrei und nicht mehr hygroskopisch. Nach Kraut[3]) verliert Gips schon bei 100° ziemlich schnell

[1]) Diese Zeitschr. 4, 268, 1907.
[2]) Treadwell, Kurzes Lehrb. d. analyt. Chem. 2, 61/62, 1907.
[3]) Graham-Otto 3, 567.

den größten Teil (18 %) seines Wassers, nach Knapp[1]) schon unter 100°. Ossian Aschan[2]) gab noch in diesen Tagen 80° als „Temperatur des Entwässerns" an. Nach Hannay[3]) ist die Entwässerung vollständig bei 190°, nach Le Chatelier[4]) bei 160°. Zunino[5]) gibt für künstlich hergestelltes $CaSO_4 + 2H_2O$ an, daß es bei 100° an 28 % seines Wassers verliert und bei 188° völlig wasserfrei ist. Es reabsorbiere aber unter diesen Umständen, ja selbst bei 230° erhitzt und an der Luft stehen gelassen, sein Krystallwasser noch vollständig. Diese Angaben Zuninos müssen, wie unsere Versuche auch zeigen, beachtet werden. $CaSO_4 + 2H_2O$ muß tatsächlich „totgebrannt" werden, sonst zieht es sogar, wie die nachfolgenden Zahlen zeigen, aus dem $CaCl_2$ eines nicht ganz frisch beschickten Exsiccators Wasser an.

Je 100 ccm einer $CaCl_2$-Lösung, entsprechend 0,0992 g CaO, gefunden nach dem Oxalatverfahren, wurden mit Schwefelsäure und Alkohol versetzt. Es waren demnach zu erwarten 0,2409 g $CaSO_4$.

Es wurden erhalten in zwei Versuchsreihen:

	Versuchsreihe I		Versuchsreihe II
Nach 1½ Stunde bei 85°	0,2657 g $CaSO_4$	und	0,2520 g $CaSO_4$
„ 1 „ „ 85°	0,2527 „ „	„	0,2522 „ „
„ 1 „ „ 85°	0,2507 „ „	„	0,2514 „ „
„ 20 Min. bei 105 bis 120°	0,2500 „ „	„	0,2504 „ „
„ 1 Stunde bei 105°	0,2503 „ „	„	0,2496 „ „
„ 1 „ „ 105°	0,2502 „ „	„	0,2499 „ „
„ 1 „ „ 105°	0,2503 „ „	„	0,2500 „ „
„ 1 „ „ 130°	0,2517 „ „	„	0,2520 „ „
geglüht	**0,2441** „ „	„	**0,2440** „ „
„	**0,2438** „ „	„	**0,2440** „ „
„	**0,2408** „ „	„	**0,2404** „ „
„ 1 „ bei 105°	0,2460 „ „	„	0,2454 „ „
Nach 1 weiteren Stunde bei 105°	0,2470 „ „	„	0,2456 „ „

[1]) Graham-Otto 3, 567.
[2]) Chem. Ztg. 1913, 1117.
[3]) Gmelin-Kraut, Calcium II, 231, 1910.
[4]) Ebenda und C. B. 1, 203, 1889.
[5]) Ebenda 230 und C. B. 1237, 1900.

	Versuchsreihe I		Versuchsreihe II
Nach 1 weiteren Stunde bei 135°	0,2470 g $CaSO_4$	und	0,2454 g $CaSO_4$
Nach $1^1/_4$ weiteren Stunde im Exsiccator	0,2520 „ „	„	0,2494 „ „
Nach 1 weiteren Stunde bei 175°	0,2450 „ „	„	0,2526 „ „
Nach 20 weiteren Stunden im Exsiccator	0,2534 „ „	„	0,2548 „ „
geglüht	**0,2400** „ „	„	**0,2388** „ „
Nach 4 Stunden im Exsiccator	**0,2408** „ „	„	**0,2396** „ „
Nach 20 Stunden im Exsiccator	**0,2408** „ „	„	**0,2399** „ „
Nach 5 Stunden an der Luft	**0,2413** „ „	„	**0,2400** „ „

Diese beiden Versuchsreihen geben ein anschauliches Bild der Gewichtsverhältnisse bzw. der Eigenschaften des bei verschiedenen Temperaturen behandelten, durch Fällung erhaltenen Calciumsulfates und beweisen im Anschluß an Zunino insbesondere, daß die in Lehrbüchern enthaltenen Vorschriften, wonach das bei 105° getrocknete $CaSO_4$ wägefähig sei, revidiert werden müssen; allein schon diesem Befunde nach muß man bei der Aronschen Methode zu hohe Werte erwarten.

Studium der Aronschen Methode an Salzgemischen.

Im Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden (I, S. 402) gibt Abderhalden in einer Fußnote zu der von Aron bearbeiteten Aschenanalyse an, wie man sich am besten Sicherheit in der Aschenbestimmung verschafft: „Man kann z. B. auch mehrere Salze mischen und aschefreien Zucker hinzugeben und dann veraschen. Nimmt man zu diesen Vorübungen Mengen der einzelnen Elemente, die den im Ernstfalle vorkommenden entsprechen, so kann man mit wenig Zeitverlust sich große Übung und Sicherheit in der quantitativen Aschebestimmung aneignen. Diese Methode ist vor allem deshalb vorteilhaft, weil eine Kontrolle möglich ist. Gut übereinstimmende Doppelanalysen brauchen an und für sich noch durchaus nicht für ein richtiges Resultat zu sprechen.“ Um also

die Vorgänge, die sich bei der Aronschen $CaSO_4$-Fällung abspielen, leicht studieren zu können, ging ich nach diesen Ratschlägen vor und stellte mir die im Kot vorliegenden Salzgemische mit reinen Salzlösungen her. Ich hoffte, auf diese Weise Einblick in die etwaigen Einflüsse der einzelnen Salzkomponenten durch Wechsel in ihren Mengenverhältnissen zu erhalten. Es wurden jeweils 100 ccm der schon erwähnten 0,2409 g $CaSO_4$ liefernden $CaCl_2$-Lösung zur Untersuchung herangezogen und dazu, wie noch unten in den einzelnen Versuchsreihen näher anzugeben sein wird, in Lösung gewisse Mengen von Mg, Fe, Na, P nebst der beim nassen Aufschluß vorhandenen freien SO_4H_2 gegeben. Auch der Einfluß der Zeit, nach der die vorher stark eingedampften, in ein Becherglas übergespülten und schließlich mit Alkohol vorschriftsmäßig versetzten Lösungen in den Goochtiegel filtriert wurden, gelangte zu Beobachtung.

I. Versuchsreihe.

Zusätze: 0,03 g MgO; 0,01 g FeO; 0,10 g Na_2O; 0,02 g P_2O_5; 7 ccm konz. SO_4H_2.

Zeitdauer: 16 Stunden.

Befund an $CaSO_4$: 0,2538 g (= 105,4 %) und 0,2544 g = 105,7 %.

Theorie: 0,2409.

II. Versuchsreihe.

Zusätze: 0,06 g MgO; 0,02 g FeO; 0,20 g Na_2O; 0,04 g P_2O_5; 14 ccm konz. SO_4H_2.

Zeitdauer		Befund an $CaSO_4$
16 Stunden	Befund an $CaSO_4$:	0,2835 g = 117,7 %
16 „	„ „ :	0,2961 g = 123,0 %
5 „	„ „ :	0,2516 g = 104,4 %
20 „	„ „ :	0,2454 g = 101,8 %
48 „	„ „ :	0,2730 g = 113,3 %

III. Versuchsreihe.

Zusätze: wie bei II., aber unter Ausschaltung, Vermehrung oder Verminderung einzelner Komponenten, wie jeweils bemerkt.

Zeitdauer:	Befund an $CaSO_4$:
5 Stunden bei 28 ccm konz. SO_4H_2	0,2478 g = 102,8 %
20 „ „ 28 „ „ „	0,3986 g = 165,5 %
20 „ „ 21 „ „ „	0,4424 g = 183,7 %

Zeitdauer:		Befund an $CaSO_4$:
16 Stunden	bei 7 ccm konz. SO_4H_2	0,3087 g = 128,1 %
16 „	„ 1 „ „ „	0,3318 g = 137,7 %
16 „	„ 0,01 g FeO	0,2628 g = 109,1 %
16 „	ohne FeO	0,2699 g = 112,0 %
16 „	„ FeO und MgO	0,2529 g = 105,0 %
16 „	„ P_2O_5	0,2621 g = 108,8 %
5 „	bei 0,20 g P_2O_5 (5 fache Menge)	0,5843 g = 243,7 %

IV. Versuchsreihe.

Zusätze: wie bei II., jedoch die doppelte Menge Na_2O (0,40 g).

Zeitdauer:	Befund an $CaSO_4$:
5 Stunden	0,3427 g = 142,2 %
20 „	0,5674 g = 235,6 %
48 „	0,4836 g = 200,7 %

Bei allen Versuchen wurden also zu hohe Werte erhalten, teilweise erheblich zu hohe (bis 243,7 %), zweimal höchstens annähernd stimmende mit 101,8 % und 102,8 %. Zugleich zeigt I, II und III mit Befunden wie 0,2538, 0,2544, 0,2516, 0,2529 g $CaSO_4$, daß auch recht nahe beisammenliegende Werte erhalten werden können, die dem Analytiker, der ja in praxi den tatsächlichen Ca-Gehalt seiner Probe nicht kennt, durch diese Übereinstimmung die Richtigkeit seiner Untersuchung vortäuschen können. Ob die Zeit auf die Menge des auf Alkoholzusatz ausfallenden Niederschlages eine Wirkung ausübt, steht nicht fest. Eisen wird, wenn es vorhanden ist, immer mitgerissen; das beweist die in diesem Falle stets rötliche Färbung der geglühten Niederschläge. Ist es nicht vorhanden, so ändert dies nichts an den Mehrbefunden. Das gleiche gilt für die Phosphorsäure, die, wenn in der ursprünglichen Lösung vorhanden, im Niederschlag qualitativ nachweisbar ist. Die Verringerung der SO_4H_2 scheint ungünstig zu wirken (siehe III), Steigerung der Natriumsalze (IV) ebenfalls. Calcium läßt sich also aus stark schwefelsaurer Lösung im Beisein von Mg, Fe, Na, P nicht in reiner Form als $CaSO_4$ abscheiden; an seiner dabei stattfindenden Verunreinigung scheinen alle diese Komponenten mehr oder minder teilzunehmen. Die für die Oxalatfällung als hinreichend erachtete vorherige Fe- und P-Abscheidung würde hier auch nichts nützen. Im übrigen ist eine Gesetzmäßigkeit, von welcher das

Mehr an Gipsfällung abhängt, aus meinen Versuchen noch nicht herauszulesen, wohl weil zu vielerlei Umstände (siehe II und III) das Aronsche Verfahren beeinflussen können.

Während die ersten Reihen von Salzgemengen mehr denen, die im Kot vorkommen, ähneln, wurde nunmehr das Studium der Aronschen Gipsfällung auf Salzgemische ausgedehnt, deren Zusammensetzungen ungefähr dem Menschen- und Rinderharn entsprechen.

500 ccm der immer frisch hergestellten Salzlösungen wurden genau nach der Aronschen Vorschrift[1]) behandelt.

V. Versuchsreihe.

In 500 ccm waren enthalten: 0,005 g P_2O_5; 0,06 g MgO; 0,75 g K_2O; 0,25 g Na_2O; 0,03 g F_2O_3; 1,8 g $(HN_4)_2SO_4$; 0,02 g CaO; 10 ccm. konz. SO_4H_2.

Theorie: 0,0486 g $CaSO_4$.

Befund	an $CaSO_4$	nach	2	Stunden:	0,0599 g = 123,3 %
"	"	"	3	"	0,0586 g = 120,5 %
"	"	"	6	"	0,0652 g = 134,2 %
"	"	"	10	"	0,0684 g = 140,7 %
"	"	"	12	"	0,0677 g = 139,3 %
"	"	"	12	"	0,0694 g = 142,8 %

VI. Versuchsreihe.

500 ccm dieser Lösung enthielten: 0,025 g P_2O_5; 0,3 g MgO; 3,75 g K_2O; 1,25 g Na_2O; 0,15 g Fe_2O_3; 9,0 g $(NH_4)_2SO_4$; 0,1 g CaO; 20 ccm konz. SO_4H_2.

Theorie: 0,2429 g $CaSO_4$.

Befund	nach	2	Stunden	an $CaSO_4$:	0,3409 g = 140,3 %
"	"	3	"	" :	0,3450 g = 142,1 %
"	"	6	"	" :	0,3316 g = 136,5 %
"	"	10	"	" :	0,3594 g = 148,0 %
"	"	12	"	" :	0,3740 g = 154,0 %
"	"	12	"	" :	0,3766 g = 155,1 %

VII. Versuchsreihe.

500 ccm dieser Lösung enthielten: 0,05 g P_2O_5; 0,6 g MgO; 7,5 g K_2O; 2,5 g Na_2O; 0,3 g Fe_2O_3; 18 g $(NH_4)_2SO_4$; 0,2 g CaO; 40 ccm konz. SO_4H_2.

---

[1]) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 1, 413.

Theorie: 0,4856 g $CaSO_4$.

Befund nach	2	Stunden	an $CaSO_4$:	0,7973 g =	164,2 %
„ „	3	„	„ :	0,7935 g =	163,3 %
„ „	6	„	„ :	0,7596 g =	156,5 %
„ „	10	„	„ :	0,8409 g =	173,2 %
„ „	12	„	„ :	0,8768 g =	180,5 %
„ „	12	„	„ :	0,8840 g =	182,0 %
„ „	48	„	„ :	1,4740 g =	303,5 %
„ „	48	„	„ :	1,5624 g =	321,8 %

Auch bei diesen 20 Versuchen wurden durchweg zu hohe Werte gefunden, ferner sieht man in Reihe V, VI und VII Resultate angegeben, die untereinander, wenn man eben den Gehalt an Kalk nicht kennt, so gut übereinstimmen, daß man in Versuchung kommt, diese Ergebnisse als die richtigen anzusprechen; in der Tat glaubte ich, mich in der letzten Reihe mit der Kalkzugabe versehen zu haben, und erst die Oxalatbestimmung und daraus die Sulfatüberführung ergab den beinahe theoretischen Wert von 0,4843 g.

Die eine Folgerung aus diesen letzten Versuchen ist unter allen Umständen zu ziehen: die Aronsche Kalkbestimmung ist unter keinen Umständen in salzreichen und speziell nicht in natriumreichen Lösungen zu verwenden, denn

1. alle Gipsniederschläge sind rötlich bis braun gefärbt, also ist auch hier Eisen mitgerissen worden;

2. in allen Gipsfällungen war die Phosphorsäure qualitativ nachweisbar;

3. dasselbe gilt für Natrium und Kalium;

4. Magnesium war nur in den Ergebnissen von Reihe VI und VII qualitativ in größerer Menge nachweisbar;

5. eigentümlich ist das Verhalten von Ammoniumsulfat. Einerseits scheint die vorhandene beträchtliche Menge dieses Salzes in Reihe VII lösend zu wirken, denn in den gewogenen Niederschlägen 0,7973 und 0,7935 wurde das Ca als CaO nach der üblichen Oxalatmethode bestimmt und in Mengen von 0,4511 und 0,4477 (als $CaSO_4$ umgerechnet) gefunden. Nach der Theorie sollte vorhanden sein 0,4856 g. Andererseits fielen nach 48stündigem Stehen die enormen Mengen von 1,4740 und 1,5624 g aus, die in der Tat nach der erneuten Auflösung,

Fällung als Oxalat und Umrechnung als $CaSO_4$ nur 0,4808 und 0,4828 enthielten.

Beide Beobachtungen stimmen mit den Angaben der Literatur überein. Rose[1]) gibt an, daß die wässerige konzentrierte Lösung von Ammonsulfat beim Kochen Gips löst. Sullivan[2]) und ebenso van't Hoff[3]) geben an, daß durch mehrtägiges Stehen die Doppelsalze

$$(NH_4)_2SO_4 + CaSO_4 + 2\,H_2O$$

oder $$(NH_4)_2SO_4 + 2\,CaSO_4$$

oder $$(NH_4)_2SO_4 + 5\,CaSO_4 + 1\,H_2O$$

ausfallen können. Bei Gegenwart von Kaliumsulfat treten auch nach van't Hoff Doppelsalze mit K_2SO_4 auf.

Studium der Aronschen Methode an Kot.

Nach diesen wenig ermunternden Vorarbeiten wurde die Methode auf einen Schweinekot angewendet. Zur Analyse gelangten jeweils 3 g Trockensubstanz mit einem Ca-Gehalt entsprechend 0,1564 g $CaSO_4$ = 0,0644 g CaO. P_2O_5 war mit 0,11 g darin vertreten. Der wahre Calciumgehalt wurde in besonderen Einwagen durch die Oxalatmethode in der Trockenasche festgestellt. Er stimmte auch dann mit den Ca-Gehalt der nach Aron erhaltenen Sulfatniederschläge überein, wenn man diese in starker Salzsäure heiß löste, Eisen und Phosphorsäure entfernte und dann die Oxalatfällung vornahm. Es wurde bei 8 Versuchen mit diesem Schweinekot erhalten:

bei einer Zeitdauer von 5 Stunden:	0,2241 g 0,2216 g 0,1682 g 0,1577 g 0,2067 g
" " " " 16 "	0,2219 g und 0,2842 g
" " " " 48 "	0,3059 g

also hier ebenfalls gänzlich schwankende Resultate. Von 8 Analysen ist eine brauchbar, und diese wurde eigentlich, weil schon nach 5 Stunden abfiltriert, unvorschriftsmäßig erhalten. Man beachte, daß drei Versuche die Zahlen 0,2216, 0,2219, 0,2241 g ergeben haben. Solche bereits bei den vorherge-

[1]) Ann. d. Phys. u. Chem v. Pogg. **110**, 297.

[2]) Journ. Am. chem. Soc. **27**, 529.

[3]) van't Hoff und Wilson, Berl. Ber. Akad. **1900**, 1142.

gangenen Versuchen mit Salzgemischen beobachteten Zufälligkeiten in der äußeren rein gewichtsmäßigen Übereinstimmung mögen die Anwendung dieser Methode begreiflich machen und die frühere Aufdeckung ihrer Mängel verhindert haben.

Durch Überführung einiger von diesen Sulfatniederschlägen in Oxalat bzw. Oxyd wurde erhalten:

Aus 0,1577 g	0,0646 g CaO	im Mittel: 0,0645 g CaO.
„ 0,2067 g	0,0657 g „	
„ 0,2216 g	0,0653 g „	
„ 0,2842 g	0,0644 g „	

Hierbei ist zu bemerken, daß geglühtes $CaSO_4$ in heißer Salzsäure 1,12 nicht immer ganz löslich ist. In einem Falle gelang mir die Lösung erst bei Anwendung der Säure 1,19. Daß die bei Umwandlung der Sulfatniederschläge gefundene Durchschnittszahl 0,0645 g CaO den wahren Kalkgehalt des untersuchten Kotes wiedergibt, zeigten uns die auf dem Oxalatwege nach Oppenheimer-Striegel[1]) erhaltenen Resultate von Versuchen mit den durch Glühen erhaltenen Aschen. Ich erhielt aus je 3 g Kot 0,0643 g, 0,0641 g, 0,0644 g CaO.

Ich möchte bei dieser Gelegenheit nicht versäumen, auf eine mögliche Fehlerquelle des auf Kotaschen angewendeten Oxalatverfahrens hinzuweisen, die bei sehr genauen Analysen Beachtung verdienen dürfte.

Nach Striegel[1]) wird der in Salzsäure lösliche Anteil der Asche mit 10 ccm Eisenchloridlösung (10°/₀) versetzt und darauf die Ammon-Acetat-Fällung vorgenommen. Diese Menge Eisenchlorid dürfte bei dem oft vorhandenen beträchtlichen Phosphatgehalt keineswegs zu hoch bemessen sein. Sie liefert jedoch derart reichliche Niederschläge von schwer auswaschbaren Ferriphosphat und basischen Ferriacetat, daß diese etwas Kalk zurückhalten. Ich habe den Niederschlag, dessen Auswaschen ja auch recht zeitraubend ist, allerdings nur 2 mal mit heißem, Ammonacetat enthaltendem Wasser ausgewaschen.

Im Filtrat wurden gefunden:	0,0619 g	0,0619 g	0,0621 g CaO
Der gelöste und wieder gefällte Filterinhalt lieferte noch	0,0024 g	0,0022 g	0,0023 g „
Also in toto vorhanden. .	0,0643 g	0,0641 g	0,0644 g CaO

[1]) Handb. d. Biochem. 1, 16.

Der Niederschlag der Ferrisalze okkludierte demnach ca. 3,5 % des insgesamt vorhandenen Calciumoxyds. Um Zeit zu sparen und doch sicher zu gehen, empfiehlt es sich, ihn, ohne sich erst lange mit Auswaschen aufzuhalten, mit heißer Salzsäure vom Filter weg in das ursprünglich benutzte Becherglas zu lösen, die Fällung nach entsprechender (etwa 3 bis 4 Filterfüllungen betragender) Verdünnung zu wiederholen und beide Filtrate zu vereinigen. Die Ferrisalze braucht man jetzt nicht mehr auszuwaschen.

Studium der Aronschen Methode im Harn.

Von einem Ochsenharn, in dem ein früherer Mitarbeiter, Dr. Djakow[1]), 0,022 % CaO in 100 ccm gefunden hatte, wurden eingedampft und im elektrischen Muffelofen bis zur Rotglut verascht. Die Asche wurde in der üblichen Weise mit Salzsäure aufgenommen und aufs genaueste von SiO_2, P_2O_5, Fe und Mg befreit. Schließlich wurde der Kalk als Oxalat in der üblichen Weise in der Siedehitze gefällt, 6 Stunden lang im Trockenschrank bei 103 bis 104° getrocknet und als $C_2O_4Ca + 1\,H_2O$ zur Wägung gebracht. Befund an diesem Salz aus 400 ccm Harn:

	0,2254 g
	0,2259 g
	0,2250 g
	0,2251 g
im Mittel	0,2253 g.

Nach dem Glühen mit dem Gebläse erhielt man daraus:

	0,0864 g
	0,0876 g
	0,0858 g
	0,0861 g
im Mittel	0,0864 g.

Mithin konnte der Befund von Dr. Djakow mit 0,0216 % vollauf bestätigt werden. Nachdem auf diese Art der Kalkgehalt im Harn festgelegt war, analysierte ich diesen genau nach Aron[2]).

[1]) Landw. Jahrbücher 1913, 840.

[2]) Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 1, 413.

Aus je 400 ccm Harn wurden zur Wägung gebracht:

0,3196 g $CaSO_4$
0,3186 g „
0,3159 g „
0,3120 g „

Indessen hätten es (nach obigem Befund zu schließen) nur sein dürfen: 0,2094 g $CaSO_4$. Andererseits sieht man auch hier wieder, daß ein exakt nach Aron arbeitender Analytiker das Mittel zum mindesten aus den drei ersten Bestimmungen ziehen würde mit 0,3180 g. Im übrigen waren auch diese Aschen (wie bei den Gipsniederschlägen des Kotes) braun gefärbt von mitgerissenem Eisen. Ferner sind auch beträchtliche Mengen von Alkalisalzen dabei, die nicht, wie Aron glaubt, beim Dekantieren völlig in Lösung gehen, und nicht zu unterschätzende Mengen gallertiger Kieselsäure. Der erste Niederschlag, 0,3196 g, wurde in konzentrierter Salzsäure gelöst, das Ungelöste als SiO_2 identifiziert, vom Eisen und von der Phosphorsäure befreit und der Kalk als Oxalat bestimmt in einer Menge von 0,2212 g $C_2O_4Ca + 1\ H_2O$.

Die beiden nächsten Niederschläge, 0,3186 und 0,3159 g, wurden je 2 mal mit wenig siedendheißem, destilliertem Wasser ausgewaschen; im Filtrat waren qualitativ Na, K, Mg, H_2SO_4 nachweisbar. Die noch bräunlich gefärbten restierenden Mengen betrugen nach dem Glühen: 0,2385 und 0,2454 g. Diese beiden Mengen wurden nunmehr mit Kalium-Natriumcarbonat in der Glühhitze aufgeschlossen und die darin vermutete Kieselsäure nach ihrer sorgfältigen Abscheidung und Reinigung mit Salzsäure und Wasser zur Wägung gebracht. Ich fand 0,0181 und 0,0224 g SiO_2.

Daraufhin habe ich den Ochsenharn auf Kieselsäure untersucht. In 1000 ccm waren enthalten: 0,1292 g, in anderen Proben frischen Rinderharns wurden gefunden: 0,1490 bis 0,2620 g; im frischen Menschenharn (aus einem Sammelgefäß entnommen): 0,0844 g, im Menschenharn (nach reichlicher Gemüsenahrung): 0,0998 bis 0,1829 g[1]).

Das eine ist demnach sicher: bei der Kalkbestimmung

[1]) Eine Beobachtung, auf die ich später in einer besonderen Veröffentlichung zurückkommen werde.

im Harn darf die Kieselsäure nicht unberücksichtigt gelassen werden.

Um nun noch einer anderen Fehlerquelle in der Aronschen Kalkmethode nachzugehen, wurde dem auf Ca analysierten Ochsenharn 10%ige Natriumsulfatlösung in verschiedenen Mengen zugesetzt.

Aus 400 ccm Harn

+ 1 ccm	Na_2SO_4-Lösung	wurden bestimmt:	0,3285 g $CaSO_4$
+ 5 „	„	„ „ :	0,4133 g „
+ 10 „	„	„ „ :	0,4382 g „
+ 20 „	„	„ „ :	0,5897 g „

Demnach scheint in der Tat eine große Menge von den störenden Natronsalzen mit dem zu wägenden Gips vergesellschaftet zu sein.

Kaliumsulfat, zum Harn hinzugesetzt, verhält sich ähnlich wie Natriumsulfat. Auch Eisen vermehrt den Gipsniederschlag.

400 ccm Harn

+ 1 ccm	0,01%ige $FeCl_3$-Lösung	ergaben:	0,3244 g $CaSO_4$
+ 2 „	„	„ „ :	0,3584 g „
+ 5 „	„	„ „ :	0,4271 g „
+ 10 „	„	„ „ :	0,6453 g „

Dabei scheint außerdem das Eisen noch andere Salze mit in den Gipsniederschlag zu reißen. Ganz ebenso verhält sich die Phosphorsäure.

400 ccm Harn

+ 1 ccm	$^n/_1$-PO_4H_3	lieferten:	0,3371 g $CaSO_4$
+ 5 „	„	„ :	0,4489 g „
+ 10 „	„	„ :	0,9922 g „

Für das in seiner bisherigen Form, wenigstens bei nassen Veraschungen von Kot und Harn, doch wohl unhaltbare Aronsche Verfahren dürfte sich folgendes empfehlen:

Man sammelt die Sulfatniederschläge nach 4 bis 5stündigem Stehen[1]) in einem Goochtiegel und wäscht 2mal mit 70%igem Alkohol aus. Sand und gallertartige SiO_2 braucht man jetzt nicht vorher zu entfernen. Nun setzt man den Tiegel mittels Vorstoßes auf eine kleine Saugflasche, löst den Nieder-

[1]) Nach 1stündigem Stehen wurde gelegentlich unvollständige Ca-Abscheidung beobachtet.

schlag mit heißer, konzentrierter Salzsäure und wäscht quantitativ das Ungelöste aus[1]). Die Lösung wird quantitativ in ein hohes Becherglas gespült, mit 2 Tropfen Methylorange versetzt, mit Ammoniak neutralisiert und darauf die Ferri-Acetatfällung vorgenommen, indem man höchstens 2 bis 3 Tropfen einer 10%igen Ferrichloridlösung verwendet. Der jetzt geringe Niederschlag läßt sich leicht auswaschen; im kochenden Filtrat fällt man das Calcium als Oxalat. Man läßt den Niederschlag auf dem Wasserbade völlig absetzen, filtriert ihn in den gewogenen Goochtiegel und wäscht ihn mit wenig heißem Wasser 3 bis 4 mal, bis die Oxalatreaktion im Waschwasser negativ verläuft. Der Niederschlag wird bei 103 bis 105° 4 bis 5 Stunden getrocknet und zur Wägung gebracht[2]). Dieser Niederschlag mit der Zusammensetzung $C_2O_4Ca + 1\,H_2O$ hat das Molekulargewicht 146,07; geglühter Gips hat 136,17 und gebrannter Kalk 56,07.

Diese eben geschilderte Methode, die man natürlich nur bei nassen Veraschungen anwenden wird, ist in der Tat dem direkten Oxalatverfahren vorzuziehen, das von Thierfelder[3]) ebenfalls neben der Sulfatfällung empfohlen wird. Bei den ganz erheblichen Schwefelsäuremengen, die dabei vor der Ferriacetatfällung abgestumpft werden müssen, ist man nämlich gezwungen, die Calciumoxalatfällung in Gegenwart derartiger Mengen von Ammonsalzen vorzunehmen — muß man doch mit ca. 30 g Ammonsulfat rechnen —, daß die Unlöslichkeit des Calciumoxalatniederschlages (ohne Berücksichtigung dieser Verhältnisse) nicht mehr gesichert ist.

Einfluß von Ammonsulfat auf die Calciumoxalatfällung.

Der Schweinekot, der (s. S. 373) pro 3 g 0,0644 g CaO lieferte, wurde gelegentlich nach Neumann mit dem Gemisch

---

[1]) Bei Sulfatniederschlägen aus dem Harn kommt es gelegentlich vor, daß sich in dem Waschwasser nochmals Kieselsäure ausscheidet; in diesem Falle filtriert man von neuem.

[2]) Während diese Arbeit im Sommer bis Winter 1913 ausgearbeitet wurde, wobei mich übrigens die Herren Dr. Prettner, Dr. Klein und Fräulein Steuber, Fräulein Kaminski vom hiesigen Institut durch gelegentlich ausgeführte Analysen unterstützten, wofür ich ihnen auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sage, erschien am 1. Nov. 1913 in der Chem.-Zeitg. eine Arbeit von S. Goy, Die gewichtsanalytische Bestimmung des Calciums als Calciumoxalat.

[3]) Thierfelder, Handb. d. chem. Analyse, S. 545.

von Schwefel-Salpetersäure aufgeschlossen und nach dem Verjagen von NO_3H der Überschuß an Schwefelsäure mit konzentriertem Ammoniak neutralisiert und schließlich die übliche Oxalatmethode eingeschlagen. Danach wurden aus zwei Analysen 0,0605 und 0,0616 g CaO gefunden. Dieser zweifelsohne zu niedrige Befund des doch sonst überaus zuverlässigen Oxalatverfahrens, das übrigens auch von Thierfelder[1]) empfohlen wird, gab mir Veranlassung zur Untersuchung, ob diese Unstimmigkeiten in dem Verhalten des Calcium-Oxalats gegenüber dem aus ca. 10 bis 15 ccm konz. SO_4H_2 entstandenen Ammonsulfat zu suchen seien.

Nachdem den Calciumanalysen wohl zumeist eine Behandlung des Analysengutes mit Salzsäure vorausgeht, findet man in der Literatur[2]) das Ca-Oxalat nur in bezug auf sein Verhalten gegenüber den Chloriden beschrieben. Selbst Beilstein[3]) schreibt: „Ca-Oxalat ist unlöslich in . . . Chloralkalien, $BaCl_2$, $CaCl_2$, löslich in . . ., sowie in heißen Lösungen von $MgCl_2$ und $ZnCl_2$."

Ich stellte mir eine Lösung von 3,9107 g $CaCl_2 . 6\,H_2O$ im Liter her. Je 100 ccm davon (gleich 0,1000 g CaO) wurden untersucht, indem man jeweils auf 200 ccm verdünnte, mit kalt gesättigter Ammonoxalatlösung in der Siedehitze fällte und nach ca. 16 Stunden filtrierte.

100 ccm der Lösung, gefällt mit 6 ccm Ammonoxalat, lieferten:

1. 0,0993 g CaO
2. 0,0996 g „

100 ccm der Lösung + 40 g Ammonsulfat lieferten:

3.	(gefällt mit 6 ccm Ammonoxalat):	0,0698 g CaO
4.	„ „ 9 „ „ :	0,0807 g „
5.	„ „ 12 „ „ :	0,0876 g „
6.	„ „ 15 „ „ :	0,0922 g „
7.	„ „ 18 „ „ :	0,0975 g „
8.	„ „ 21 „ „ :	0,0974 g „

[1]) l. c.

[2]) Treadwell 2, 66, 1907. — Fresenius, Anleitung zur quant. chem. Analyse 1, 157.

[3]) Handb. d. organ. Chem. 1, 642.

Die retardierende Wirkung solch großer Mengen von Ammonsulfat auf die Fällung des Calcium-Oxalates zeigte sich schon rein äußerlich. Während sonst bekanntlich schon der erste Tropfen der Ammonoxalatlösung in Kalksalzlösungen eine kräftige Trübung hervorruft, bleibt die mit 4 ccm Oxalatlösung versetzte, Ammonsulfat enthaltende Chlorcalciumlösung einige Zeit klar, natürlich auch in der Siedehitze.

Andererseits wurde versucht, wieviel mittels 100 ccm einer 20 und 40%igen heißen Ammonsulfatlösung von 1 g Calciumoxalat zu lösen wäre; 8 bis 12% des Oxalats blieben gelöst.

In der Siedehitze und heiß filtriert lösen:

200	ccm einer	20%igen	Lösung	0,1192 g	von	1 g	Ca-Oxalat
100	„ „	40%igen	„	0,0730 g	„	1 g	„
100	„ „	40%igen	„	0,0910 g	„	1 g	„
200	„ „	40%igen	„	0,1884 g	„	1 g	„

Ammonchlorid (100 ccm einer 40%igen Lösung) lösen in der Siedehitze nach stundenlanger Einwirkung 0,5 bis 1,0%.

Ammonnitratlösungen (verdünnte wie konzentrierte) lösen das Calciumoxalat überhaupt nicht, selbst nicht nach tagelanger Einwirkung in der Siedehitze.

Das Abderhaldensche Dialysierverfahren und die Anaphylaxie.

Von

Gottlieb Salus.

(Aus dem Hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.)

(Eingegangen am 13. Juni 1914.)

Bezüglich der von E. Abderhalden[1]) und E. Heilner[2]) erschlossenen Fermente des parenteralen Eiweißabbaues hatten wir schon 1907 die Vermutung[3]), daß es sich um Fermentoide handle, verschieden von den bekannten Verdauungsfermenten nicht nur durch die hohe Spezifität, sondern auch durch anomalen Ablauf des Abbaues. Wir sprachen von anomaler Verdauung, und sahen weiter abnorme, giftige Spaltprodukte als Ursache der bei der Reinjektion von artfremdem Serum auftretenden Erscheinungen an. Doch wurde in späteren Mitteilungen[4]) wiederholt darauf hingewiesen, daß hierdurch eine restlose Erklärung nicht gegeben sei, da besonders die große Spezifität und die enorm rasche Entstehung giftiger Abbauprodukte schwer mit dem in Einklang zu bringen sei, was über Verdauungsfermente bekannt ist; die von Nolf, Dörr u. a.[5]) mitgeteilten Experimente und Versuche einer physikalisch-chemischen Erklärung der Anaphylaxie erschienen sehr be-

---

[1]) Literatur über die Arbeiten von E. Abderhalden und seinen Mitarbeitern in „Abwehrfermente des tierischen Organismus", 3. Aufl., 1913.

[2]) E. Heilner, Zeitschr. f. Biol. 74.

[3]) G. Salus, Med. Klin. **1907**, Nr. 50.

[4]) G. Salus, Med. Klin. **1908**, Nr. 27; **1909**, Nr. 14; **1911**, Nr. 25 (mit F. Schleißner); **1912**, Nr. 33.

[5]) Literatur siehe in R. Dörrs gediegener Abhandlung in Kolle-Wassermann, II. Aufl.

merkenswert, ohne daß wir jedoch einen direkten und allgemeinen Zusammenhang zwischen herabgesetzter Blutgerinnbarkeit und dem uns beschäftigenden Phänomen hätten feststellen können.

Ferner konnten wir zeigen, daß künstliche Fermentpräparate (Pepsine) nicht etwa durch ihre verdauende Wirkung im Tierkörper der Serumüberempfindlichkeit entsprechende Erscheinungen hervorrufen, daß letztere vielmehr je nach dem Albumosengehalt dieser Präparate auftreten oder fehlen. Die proteolytischen Fermente an sich erschienen ungiftig. Für die herrschende Theorie, die normale Abbaustufen, Peptone als das giftige Prinzip betrachtet, war die 1909 erschienene Arbeit von Biedl und Kraus[1]) grundlegend, die zunächst für den Hund (später auch für das Meerschweinchen) in bezug auf Symptomatologie, Mechanismus und Antianaphylaxie die volle Übereinstimmung der Vergiftung durch Peptone, die mittels künstlicher Verdauung hergestellt sind, einerseits, des Anaphylaxieversuchs andererseits feststellten; ferner der von H. Pfeiffer und Mita[2]) geführte, von Schenk[3]) bestrittene Nachweis, daß bei der Digestion von Serum mit homologem Antiserum im enteiweißten Medium biurete Produkte zu finden sind, die sowohl im normalen als in dem durch den Chok erschöpften Serum fehlen sollten. Besonders bedeutungsvoll war das von Friedberger[4]) und seinen Mitarbeitern in vitro hergestellte Anaphylatoxin, endlich die in intensiver und mannigfach variierter Arbeit sichergestellten Abwehrfermente von E. Abderhalden. Es sei hier noch erwähnt, daß schon frühzeitig bezüglich der Peptonvergiftung sehr wahrscheinlich gemacht wurde, daß die wirksame Substanz abiuret sei und dem Pepton nur anhafte (Pick und Spiro), und daß Popielski sie erst sekundär im Tierkörper entstehen läßt.

Es lagen also berechtigte Zweifel vor, ob der parenterale Abbau allein zur Erklärung der Anaphylaxie ausreiche, und

---

[1]) Biedl und Kraus, Wiener klin. Wochenschr. **1909**, Nr. 11.

[2]) H. Pfeiffer und Mita, Zeitschr. f. Immun.-Forsch. **6**, H. 1, 1910.

[3]) F. Schenk, Wiener klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 15.

[4]) E. Friedberger und seine Mitarbeiter, zahlreiche Arbeiten, besonders in der Zeitschr. f. Immun.-Forsch.

wir gingen daher an die weitere Prüfung der Argumente der Abbautheorien. Zunächst wurde mit Hilfe des Dialysierverfahrens untersucht, ob diese Abwehrfermente mit den anaphylaktischen Reaktionskörpern identifiziert werden können.

Abderhalden selbst ist in der Deutung seiner Forschungsresultate gerade für unser Phänomen sehr vorsichtig, wenn er sagt, daß das Auftreten von Fermenten im Blutplasma nach der Einspritzung von blutfremden Proteinen und Peptonen unzweifelhaft in irgendeinem Zusammenhang mit der Anaphylaxie stehe, fraglich sei nur, welche Bedeutung ihnen zukomme. Er denkt daneben an Beteiligung von Zellen, an osmotische Störungen, und erörtert auch die Möglichkeit, daß ganz besondere Abbaustufen entstehen können, die eine spezielle Wirkung entfalten, wie wir dies 1907 getan.

Die Abderhaldenschen Fermente würden übrigens eher den Namen von Fermentoiden verdienen, da sie einen Übergang zwischen echten Fermenten und Antikörpern darstellen, Fermente mit Antikörperbau oder Antikörper mit hervortretender Fermentwirkung.

Zwischen ihnen und den anaphylaktischen Reaktionskörpern liegen vor allem zwei Unterschiede: der Mangel der Artspezifität und die Möglichkeit, diese Fermente auch durch Einspritzung von Abbauprodukten, die nicht anaphylaktogen wirken, zu erzielen; doch sind diese Verschiedenheiten nicht die einzigen.

Es lag nahe, die Dialysierversuche dem Anaphylaxiegrundversuch — Meerschweinchen - Pferdeserum — anzugliedern, einige Male wurden auch Sera von Meerschweinchen, die mit Schweinemuskelplasma vorbehandelt waren, an anderem Organeiweiß geprüft[1]), jedoch der Spezifitätsfrage nicht weiter nachgegangen.

Nach Abderhalden hat es keine Schwierigkeit, an Stelle flüssiger Antigene koagulierte anzuwenden; dagegen entstehen Schwierigkeiten dadurch, daß schon Meerschweinchensera allein ninhydrinreagierende Stoffe an die Außenflüssigkeit abgeben können, und besonders daraus, daß koaguliertes Pferdeserum schon von normalem Meerschweinchenserum abgebaut wird, so

[1]) G. Salus, diese Zeitschr. 60, H. 1.

daß es sich auch hier, wie bei den Antikörpern, um eine Steigerung normaler Qualitäten handelt.

Aus einer größeren Versuchsreihe ergab sich für den speziellen Fall des Abbaues von koaguliertem Pferdeserum, daß von nichtvordialysiertem Meerschweinchenserum knapp 0,5 ccm in den Versuch eingeführt werden dürfen; vom vordialysierten vermochten wir schließlich selbst 1 ccm zu brauchen, doch war zu solcher Vordialyse so viel Zeit erforderlich, daß sich ein beträchtliches Absinken der Komplementwirkung bemerkbar machte und die Reaktionen schwächer ausfielen als mit 0,5 ccm unvordialysierten Serums. Allerdings läßt sich dort, wo nur Komplementschwund vorliegt, durch Zusatz von 0,1 ccm Kplt. ausgiebige Restitution erzielen, wie sie Stephan[1]), Abderhalden[2]), Hauptmann[3]) u. a. nach Inaktivierung fanden; ein weiterer Beweis für Stephans Annahme eines komplexen Vorgangs, und dies um so mehr, als es den Anschein hat, als ob dort, wo auch der zweite Faktor geschädigt ist, die Ergänzung durch Komplement versagte (nach dem Chok).

Wir haben daher öfter mit 0,5 ccm unvordialysiertem Serum geprobt, wobei wir uns freilich — in Anbetracht der zur passiven Übertragung der Anaphylaxie nötigen Serummengen — dessen bewußt waren, daß sich die Versuchsmöglichkeit für diese Frage unter Anwendung des Dialysierverfahrens nur auf recht engem Raume bewegen kann.

Die Reaktionen waren im allgemeinen nicht stark, vielleicht würde eine andere Methodik größere Ausschläge geben.

Nach den Vorversuchen wollten wir feststellen, ob 1. das Auftreten der Fermente dem Eintritt der Sensibilisierung oder doch ihrer passiven Übertragbarkeit zeitlich parallel geht, 2. ob die Vorbehandlung mit größeren Dosen eine Verzögerung im Manifestwerden der Fermente bedingt, 3. ob im Chok die Fermente schwinden; im allgemeinen, ob Abwehrfermente und Anaphylaxieantikörper identisch sind.

---

[1]) Stephan, Münchn. med. Wochenschr. **1914**, 801.

[2]) Abderhalden, Med. Klin. **1914**.

[3]) Hauptmann, Münchn. med. Wochenschr. **1914**.

Versuch 1.

M., vorbehandelt vor 7 Tagen mit 0,01 ccm Pferdeserum[1]). Brutschrank 16 Std.

	Ninhydrinprobe
1,0 ccm Js. allein, vordialysiert	0
1,0 „ „ „ + Pferdeser. koag.	+
0,75 „ „ „ + „ „	+
0,5 „ „ „ + „ „	±
0,5 „ „ „ unvordialysiert	0
0,5 „ „ unvordialysiert + Pferdeser. koag.	+++
Doppelte Antigenkontrolle	0

Versuch 2.

M., vorbehandelt vor 6 Tagen mit 1 ccm Pferdeserum. Brutschrank 16 Std.

	Ninhydrinprobe
1,0 ccm Js. allein, vordialysiert	0
1,0 „ „ + Pferdeser. koag.	+
0,75 „ „ + „ „	0
0,5 „ „ + „ „	0
0,5 „ „ unvordialysiert	Spuren
0,5 „ „ „ + Pferdeser. koag.	+++
0,3 „ „ „ + „ „	0

Versuch 3.

M., vor 6 Tagen mit 0,2 ccm Schweinemuskelplasma vorbehandelt. Dialysierversuch mit Rindermuskel koag.; Organ geprüft.

	Ninhydrinprobe	Biuretprobe
0,1 ccm Js. auf 1,5 ccm Kochsalzlösg. + Rindermuskel	0	0
0,2 „ „ „ 1,5 „ „ + „	0	0
0,3 „ „ „ 1,5 „ „ + „	0	0
0,4 „ „ „ 1,5 „ „ + „	+	+
0,4 „ „	0	0

Versuch 4.

M., vor 11 Tagen mit 0,2 ccm Schweinemuskelplasma vorbehandelt wie Versuch 3.

	Ninhydrinprobe
0,5 ccm Js.	±
0,5 „ „ + Rindermuskel	+
0,4 „ „ + „	0
0,3 „ „ + „	0
Doppelte Antigenkontrolle	0

[1]) Die Flüssigkeit im Dialysierschlauch ist stets mit physiologischer Kochsalzlösung auf 1,5 ccm aufgefüllt. Unvordialysierte Serumportionen stehen während der Dauer der Vordialyse der andern im Eisschrank und werden dann gleichzeitig mit jenen angesetzt. Das Komplement ist stets zweckmäßig im Hämolyseversuch zu prüfen. Ninhydrin pro Röhrchen 0,3 ccm 1 %iger Lösung.

Versuch 5.

M., vor 14 Tagen mit 1 ccm Pferdeserum vorbehandelt.

	Ninhydrinprobe
1,0 ccm Js. vordialysiert	0
1,0 „ „ „ + Pferdeser. koag.	+
0,5 „ „ „ + „ „	0
0,5 „ „ unvordialys. + „ „	+++
0,3 „ „ „ + „ „	0
0,5 „ „ „ allein	0
Doppelte Antigenprobe	0

Versuch 6.

M., vor 14 Tagen mit 0,01 ccm Pferdeserum vorbehandelt.

	Ninhydrinprobe
0,5 ccm Js. unvordialysiert	0
0,3 „ „ „ + Pferdeser. koag.	0
0,4 „ „ „ + „ „	0
0,5 „ „ „ + „ „	0
Doppelte Antigenkontrolle	0

Versuch 7.

M., vor 14 Tagen mit 0,2 ccm Schweinemuskelplasma vorbehandelt. Dialysierversuch mit geprüfter Rinderniere.

	Ninhydrinprobe
0,4 ccm Js. auf 1,5 ccm NaCl phys.	0
0,2 „ „ „ 1,5 „ „ „ + Rinderniere	0
0,3 „ „ „ 1,5 „ „ „ + „	0
0,4 „ „ „ 1,5 „ „ „ + „	0
Doppelte Organkontrolle	0

Versuch 8.

M., vor 10 Tagen mit 0,01 ccm Pferdeserum vorbehandelt. Antigen geprüft.

	Ninhydrinprobe
1,0 ccm Js. vordial., auf 1,5 ccm NaCl-Lsg.	0
1,0 „ „ „ „ 1,5 „ „ + Pferdeser. koag.	+
0,5 „ „ „ „ 1,5 „ „ + „ „	0
0,3 „ „ „ „ 1,5 „ „ + „ „	0

Versuch 9.

M., vor 16 Tagen mit 0,5 ccm Pferdeserum vorbehandelt. Antigen geprüft. Immunserum vordialysiert.

	Ninhydrinprobe
1,0 ccm Js. allein, auf 1,5 ccm NaCl-Lösg.	0
1,0 „ „ „ 1,5 „ „ + Pferdeser. koag.	0
0,5 „ „ „ 1,5 „ „ + „ „	0

Versuch 10.

M., vor 18 Tagen mit 0,01 ccm Pferdeserum vorbehandelt. Antigen geprüft.

	Ninhydrinprobe
1,0 ccm Js. vordial., auf 1,5 ccm NaCl	0
1,0 „ „ „ „ 1,5 „ „ + Pferser. koag.	+
0,5 „ „ „ „ 1,5 „ „ + „ „	0
0,5 „ „ „ „ 1,0 „ „ + 0,5 ccm Pferdeser. flüss.	0
1,0 „ „ unvord., „ 1,5 „ „	±
1,0 „ „ „ „ 1,5 „ „ + Pferdeser. koag. . . .	+++
0,5 „ „ „ „ 1,5 „ „ + „ „ . . .	+

Versuch 11.

M., vor 22 Tagen mit 1,0 ccm Pferdeserum vorbehandelt.

	Ninhydrinprobe
0,5 ccm Js. unvord., auf 1,5 ccm NaCl. phys.	0
0,5 „ „ „ „ 1,5 „ „ „ + Pferdeser. koag.	++
0,3 „ „ „ „ 1,5 „ „ „ + „ „	0
0,5 „ „ inakt. (1/2 Std. 55°), auf 1,5 ccm NaCl phys. + Pferdeser. koag.	0
0,5 „ „ inakt. + 0,9 ccm NaCl phys. + 0,1 ccm Kplt. + Pferdeser. koag.	++
0 „ „ + 1,3 NaCl + 0,2 Kplt. + Pferdeser. koag. . . .	0

Versuch 12.

M., vor 22 Tagen mit 0,01 ccm Pferdeserum vorbehandelt.

	Ninhydrinprobe
0,5 ccm Js. unvordial.	0
0,5 „ „ „ + Pferdeser. koag.	+
0,3 „ „ „ + „ „	±
0,5 „ „ inakt. + „ „	0
0,5 „ „ „ + „ „ + 0,1 ccm Kplt. . .	++
0 „ „ „ + „ „ + 0,2 „ „ . .	0
Doppelte Antigenkontrolle	0

Ein einfacher Vergleich der zu verschiedenen Zeiten der Vorbehandlung mittels des Dyalisierverfahrens gewonnenen Resultate zeigt, daß die Reaktionen meist nicht stark, manchmal negativ sind, daß zwischen dem Fermentgehalt wenige Tage nach der Erstinjektion, während der refraktären Periode und auf der Höhe der Sensibilisierung kein Unterschied besteht und derselbe auch von der Größe der injizierten Dosen zeitlich nicht beeinflußt wird. In dieser Hinsicht kann also eine Übereinstimmung zwischen den Abwehrfermenten und den anaphylaktischen Reaktionskörpern aus dem Dialysierversuch nicht hergeleitet werden.

Versuch 13.

Meerschw.-Ser. 24 Stunden nach überstandenem anaphylaktischen Chok.

	Ninhydrinreaktion
1,0 ccm Meerschw.-Ser. allein, vordialysiert	0
1,0 „ „ + Pferdeser. koag.	0
0,5 „ „ + „ „	0
Doppelte Antigenkontrolle	0

Versuch 14.

M., vor 18 Tagen mit 1 ccm Pferdeserum vorbehandelt, intravenös reinj. 0,03 ccm Pferdeserum. Keine Erscheinungen. 24 Stunden später:

	Ninhydrinreaktion
0,5 ccm Meerschw.-Ser. unvordial.	0
0,5 „ „ „ + Pferdeser. koag.	0
0,3 „ „ „ + „ „	0

Versuch 15.

M., vor 18 Tagen mit 1 ccm Pferdeserum vorbehandelt, intravenös mit 0,02 ccm und subcutan mit 0,2 ccm Perdeserum reinjiziert. Mäßiger Chok ohne allgemeine Konvulsionen. Nach 28 Stunden:

	Ninhydrinreaktion
0,5 ccm Meerschw.-Ser. unvordial.	0
0,5 „ „ „ + Pferdeser. koag.	±
0,3 „ „ „ + „ „	0
0,5 „ „ inakt. + „ „ + 0,1 Kplt.	++
0 „ „ „ + „ „ + 0,2 „	0
Doppelte Antigenkontrolle	0

Versuch 16.

M., vor 20 Tagen mit 0,01 ccm Pferdeserum vorbehandelt, mit 0,4 ccm iv. reinj. Im tödlichen Anfall verblutet, Blut gerinnt rasch.

	Ninhydrinreaktion
0,5 ccm Meerschw.-Ser. unvordial.	0
0,5 „ „ „ + Pferdeser. koag.	++
0,3 „ „ „ + „ „	0
0,5 „ „ inakt. + „ „ + 0,1 Kplt.	0
0,5 „ „ „ + „ „ — —	0
0 „ „ „ + „ „ + 0,2 Kplt.	0

Versuch 17.

M., vorbehandelt mit 1 ccm Pferdeserum vor 21 Tagen. Dennoch der Reinjektion iv. mit 0,4 ccm Pferdeserum rasch typisch erlegen. Postmortale Blutentnahme.

	Ninhydrinreaktion
0,4 ccm Meerschw.-Ser. unvordial.	0
0,4 „ „ „ + Pferdeser. koag.	0
Doppelte Antigenkontrolle	0

Ohne aus diesen wenigen Versuchen zu weit gehende Schlüsse zu ziehen, sehen wir doch, daß im Anfall eine Schädigung der Abwehrfermente resp. ihrer Komponenten erfolgt.

Fassen wir alles zusammen, so sind die sog. Abwehrfermente von den anaphylaktischen Reaktionskörpern durch den Mangel der Artspezifität, die Möglichkeit der Entstehung auch nach Einverleibung nicht anaphylaktogener Abbaustufen verschieden, ferner gehen sie zeitlich nicht in ihrer Entstehung bzw. Manifestation parallel und die Größe der injizierten Dosis ist für die Abwehrfermente zeitlich belanglos. Dagegen sind beide an die Mitwirkung des Komplements gebunden und beide werden durch die überstandene Zweitinjektion beeinträchtigt.

Im ganzen folgt daraus, daß außer den Abwehrfermenten noch andere Antikörper entstehen müssen, für deren Genese wohl der früher eintretende Eiweißabbau Voraussetzung ist.

Wir gingen ferner mit dem Dialysierverfahren die Frage an, ob das wirksame Prinzip im Anaphylatoxin ein peptonartiger, dialysabler und mit Ninhydrin reagierender Körper ist. Auch dieser Versuch unterliegt der Schwierigkeit, daß das Anaphylatoxin durch das erforderliche lange Stehen im Brutschrank abgeschwächt wird; für diesen Versuch eignen sich die Abderhaldenkölbchen weniger, weil sie zuviel Flüssigkeit erfordern, wodurch die nachher den Tieren einzuspritzende Menge des Dialysats zu groß wird.

Versuch 1.

24stündige Prodigiosuskultur auf schrägem Agar, in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, im Wasserbad aufgekocht, mit 5 ccm aktivem, normalem Meerschweinchenserum 3 Stunden bei 37° digeriert. Dann im Abderhaldenschen Dialysierschlauch gegen 20 ccm physiologische Kochsalzlösung 16 Stunden dialysiert. Toluol entfernt.

M. ca. 350 g iv. 5 ccm Dialysat 0
„ „ 350 g „ 5 „ „ 0
„ „ 350 g „ Abguß des Schlauchrückstandes . . Krämpfe, erholt.

(Dialysat mit intensiver Ninhydrinreaktion [Bakterien]).

Versuch 2.

24stündige Prodigiosuskultur, wie oben vorbereitet. Mit 5 ccm aktivem, normalem Meerschweinchenserum durch 24 Stunden gegen 10 ccm Wasser im Abderhaldenschlauch dialysiert, dann das Dialysat auf physiologischen Kochsalzgehalt gebracht.

M. ca. 350 g iv. 5 ccm Dialysat (sehr starke Ninhydrinreaktion) . 0
" " 350 g " Abguß des Schlauchrückstandes . . . . . Somnolenz, von Zuckungen unterbrochen, Parese der Hinterbeine, nach einigen Stunden tot.

Wir konnten also im Dialysat nicht die Giftwirkung des Anaphylatoxins feststellen und von letzterem nicht die Überzeugung gewinnen, daß es ein peptonartiger Körper sei.

Schließlich kamen wir von der Frage, ob in den verschiedenen, der Anaphylaxie zugehörigen oder ihren analogen Fällen mit Sicherheit ein Gift am Werke sei zu folgender Erwägung: gegen die Identität der Wittepeptonwirkung mit dem anaphylaktischen Chok, wie sie von Biedl und Kraus festgestellt wurde, sind stichhaltige Einwände nicht erbracht. Handelt es sich hier um einen Giftstoff, der identisch ist mit dem anaphylaktischen Anfall wirksamen und nur dadurch verschieden, daß er im letzteren Falle erst im Tierkörper durch spezifische Einwirkung auf das betreffende Antigen entsteht, dann müßten alle irgendwie mit einem anaphylaktogenen Eiweiß vorbehandelten Tiere im Stadium der anaphylaktischen Sensibilisierung gegen Wittepepton überempfindlich sein.

Biedl und Kraus fanden, „daß Pepton auf mit Serum vorbehandelte Tiere (sc. Hunde) genau in der gleichen Weise wirke wie auf normale, es könne sich demnach bei der Peptonwirkung auf sensibilisierte Tiere nicht um eine spezifische Reaktion handeln“.

Versuch a.

Austitrierung der 10 %igen Wittepeptonlösung. Normale, ca. 300 g schwere Meerschweinchen.

1.	3 ccm iv.	sofort Krämpfe, tot
2.	2 " "	dasselbe
3.	1 " "	0
4.	1,5 " "	0

Versuch b.

Vor 16 Tagen mit Pferdeserum (0,01) vorbehandeltes Meerschweinchen. Reinjektion mit derselben Portion der Wittepeptonlösung gleich nach den normalen Tieren.

1.	300 g	1 ccm Wittep. iv.	0
2.	300 g	1 " " "	0
3.	320 g	1,2 " " "	0
4.	300 g	1,5 " " "	0
5.	300 g	0,25 " Pferdeserum	nach einigen Min. Krämpfe, tot.

Die vorbehandelten Meerschweinchen sind also gegen Wittepepton nicht überempfindlich gewesen.

Aus alledem geht hervor, daß der Nachweis des Peptons durch H. Pfeiffer und Mita für die Anaphylaxiefrage nicht die Bedeutung hat, die ihm früher beigelegt wurde. Für den Einwand von Schenk[1]) spricht außerdem das Verhalten der Dialysate bei Einwirkung normaler Sera auf Pferdeserum (Ninhydrinreaktion).

Wir kommen also zu dem Schlusse, daß die chemische und physikalische Theorie vereint werden sollten, daß die parenterale Zufuhr antigenen Eiweißes zur Entstehung von Abbaufermenten führt, daß erst der eingeleitete Abbau (Freiwerden antigener Gruppen im Organismus) die Bildung weiterer Antikörper veranlaßt und sich die weiteren Vorgänge der Überempfindlichkeit unabhängig von den Abwehrfermenten vollziehen können.

Bei der Reinjektion bleibt schwerlich Zeit zum Abbau des Antigens bis zu giftigen Abbaustufen; eher kann man sich vorstellen, daß die neuen, im Blut, an Zellen oder in beiden vorliegenden Antikörpern durch sofortiges Ansichreißen von Antigenanteilen zu Störungen des „labilen kolloidalen Gleichgewichts" und damit zu den schweren Erscheinungen das Choks Anlaß geben.

Über die Art dieser Störungen durch die Adsorptionskraft des Antigen-Antikörperkomplexes zu sprechen, wäre verfrüht. Im Anaphylaxietoxin wäre dieser Komplex in vitro im voraus fertiggestellt; der Mangel seiner Wirkung von der Subcutis aus wäre ebenso leichter erklärlich, als die Notwendigkeit einer Wartezeit bei passiver Übertragung der Serumanaphylaxie.

Ob auch im Wittepepton etwas Ähnliches vorliegt, kann nicht gesagt werden, da die Herstellungsweise des Präparates nicht bekannt ist.

---

[1]) Schenk, Wiener klin. Wochenschr. **1911**, Nr. 15.

Über den Nachweis von Peptiden im Harn mittels der p-Kresol-Tyrosinase-Reaktion.

Von

R. Chodat und R. H. Kummer.

(Aus dem Botanischen Institut der Universität Genf.)

(Eingegangen am 15. Juni 1914.)

Der Gehalt des Harnes an Aminosäuren wurde in gewissen Fällen als charakteristisch für den Stickstoffumsatz des Organismus betrachtet. Namentlich wurde in Fällen von Leberatrophie eine Ausscheidung von Tyrosin und Leucin beobachtet. Auch ist Aminoessigsäure im sogenannten normalen Harn angeblich gefunden worden. Unsere Absicht ist nicht, die meist komplizierten Methoden, die zum Nachweis solcher Verbindungen angewandt wurden[1]), hier zu beschreiben und zu kritisieren. Die physiologische Bedeutung einer solchen Ausscheidung wollen wir auch vorderhand unberührt lassen. Es sei uns aber gestattet, eine Methode zu beschreiben, mittels welcher der Physiologe wie der Kliniker rasch und sicher das Vorhandensein oder das Fehlen von Peptiden im normalen und pathologischen Harn nachweisen kann.

Es muß allerdings zugegeben werden, daß durch unsere Methode[2]) nur eine Kategorie von Peptiden als solche nachge-

---

[1]) Siehe P. Rona, Nachweis und Bestimmung der Eiweißabbauprodukte im Harn in Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden **5**, 309, 1911. — Andersen, Die stickstoffhaltigen Körper, in Neuberg, Der Harn, 1911. — Abderhalden und Schittenhelm, Zeitschr. f. phys. Chem. **47**, 339, 1906. — Samuely, Zeitschr. f. phys. Chem. **47**, 376, 1906. — Hall, Biochem. Journ. 241 bis 248, 1906. — Wohlgemuth und Neuberg, Med. Klin. 9, 1906. — Mohr, Zeitschr. f. experim. Pathol. **1906**. — Labbé et Bith, Soc. Biol. **73**, 210, 1912.

[2]) R. Chodat, Nouvelles recherches sur les ferments oxydants. Arch., IV. période, **33**, 70 bis 95 und 225 bis 348, 1912.

wiesen werden kann, nämlich tyrosinhaltige Polypeptide, und speziell Tyrosin. Auch fehlt unserer Methode die Genauigkeit volumetrischer oder gravimetrischer Bestimmungen. Aber mit einiger Übung und durch den Vergleich mit einer Normalflüssigkeit wird man colorimetrisch doch zu einer annähernden Schätzung des Gehaltes an Aminosäuren des Harnes gelangen. Die hier beschriebene Methode wird gewiß dazu beitragen, die so schwankende und so komplizierte Zusammensetzung des Harnes besser kennen zu lernen und ganz besonders in solchen Fällen, wo es heißt, klinisch rasch den relativen Gehalt des Harnes an Peptiden zu ermitteln.

Man wird diese Methode auch anwenden, bevor man durch langwierige und komplizierte Trennungsoperationen zur Identifizierung bestimmter Aminosäuren vorschreiten will. Fällt z. B. der Nachweis mit unserer p-Kresol-Tyrosinase-Reaktion negativ aus, so kann ein positiver Nachweis mit gewöhnlichen chemischen Methoden, von bestimmten Aminosäuren nur auf Hydrolyse, d. h. auf Abbau proteinartiger Stoffe zurückgeführt werden. Bei negativem Ausfall unserer Reaktion ist das Vorhandensein irgendwelcher Peptide ausgeschlossen.

Harlay[1]) hat zuerst nachgewiesen, daß Eiweißstoffe unter der Einwirkung von Pepsinsalzsäure soweit hydrolysiert werden, daß sie, genau neutralisiert, mit Tyrosinase (Pilztyrosinase) einen grünen Farbstoff liefern. R. Chodat und W. Staub[2]) haben nun gezeigt, daß diese Reaktion auf dem Vorhandensein von tyrosinhaltigen Polypeptiden im Verdauungsgemisch beruht. Wird durch Trypsin der Abbau weiter geführt, so scheidet sich Tyrosin ab, und die Flüssigkeit gibt mit Tyrosinase die bekannte Rotfärbung mit nachträglicher Melaninschwärzung.

Später hat der eine von uns gezeigt[3]), daß p-Kresol-Tyrosinase in Gegenwart von Proteinstoffen einen roten Farbstoff

---

[1]) A. W. Harlay, De l'application de la tyrosinase du Russula delica, Paris, Thèse 1900.

[2]) R. Chodat und W. Staub, La spécificite de la tyrosinase. Archives, Genève, IV. période, 24, 172 bis 191, 1907.

[3]) R. Chodat, Les matières protéiques et leurs dérivés en présence du reactif p-crésol-tyrosinase. Archives, Genève IV. série, 33, 225 bis 348, 1912.

liefert, der je nach dem Grade des hydrolytischen Abbaues ins Grüne, Violette oder Blaue umschlägt und, wenn die Zersetzung bis zu den einfachen Aminosäuren fortgeschnitten ist, einen charakterischen blauen Farbstoff bildet mit intensivem rotem Dichroismus[1]).

Wir schlagen nun vor, diese Methode zum Nachweis der Peptide im Harne anzuwenden.

Kürzlich wurde von Ottolenghi[2]) ähnlich verfahren behufs Untersuchung von frischem und zersetztem Fleisch. Dieser Forscher hat interessante Resultate erzielt; er macht aber die Bemerkung, daß dabei die Untersuchung nicht rasch genug vorschreitet und daß die Methode nur dann praktische Dienste liefern wird, wenn die Reaktionszeit verkürzt werden kann. Dieser Forderung kann man sehr leicht Folge leisten, indem man sich sehr aktiver Tyrosinase bedient.

In all unseren Versuchen wurden immer dieselben Verhältnisse angewandt, nämlich:

Harn 3 ccm,
p-Kresol (1 : 250) 1 ccm,
Tyrosinase (0,05 : 10) 1 ccm.

Wie bekannt, ist das Ferment nur in neutralen oder schwach basischen Medien tätig. Der Harn muß also zuvor durch Zusatz von Na_2CO_3 neutralisiert werden. Jeder Versuch wurde durch Schütteln mit Toluol aseptisch gemacht.

Es muß aber nachdrücklich bemerkt werden, daß durch die gewöhnlichen Methoden bereitete Tyrosinase nicht anwendbar ist, da dieselbe mit anhaftenden Aminosäuren verunreinigt ist. In all unseren Versuchen haben wir eine Tyrosinase angewandt, die im botanischen Institut der Universität Genf nach der Vorschrift von Chodat und Staub bereitet worden ist. Die Reaktion war immer rasch, intensiv und unzweideutig.

Versuch 1. Nach Verlauf von 2 bis 5 Minuten ist schon die rote Farbe bemerkbar; diese letztere schlägt schon nach einigen Stunden ins Grüne um. Die Farbe variiert nach dem Harn und der jeweiliger Konzentration.

---

[1]) Zunz, Ergänzungen zu den Methoden zur Untersuchung der Verdauungsprodukte in Abderhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden 6, 513, 1913.

[2]) D. Ottolenghi, Studien über die Reifung und die Zersetzung des Fleisches. Zeitschr. f. Nahrungs- u. Genußmittel 26, 729, 1913.

Wird anstatt frischen Harns das gleiche Volumen gekochten Harnes angewandt unter den gleichen Versuchsbedingungen, so bemerkt man eine Beschleunigung der Reaktion sowie eine stärkere Intensität der Farbe, d. h. verglichen mit der entsprechenden Farbe für frischen Harn und in gleichen Zeitintervallen.

Versuch 2. Nach 5 Minuten: Die rote Farbe ist stärker als in Versuch 1. Nach 50 Minuten: Rotbrauner Ring mit grünem Saume. Nach 3 Stunden: die grüne Farbe dominiert. Nach 18 Stunden: dunkelgrün.

Diese Versuche wurden mit einer großen Zahl normaler Harne wiederholt und ergaben stets dasselbe Resultat. Somit reagieren alle normalen Harne mit p-Kresol-Tyrosinase; sie enthalten ein Peptid oder ein Gemisch von Peptiden.

Man kann die Urinfarbstoffe ausschalten durch Fällung mit Bleiacetat; solche entfärbten Harne geben dieselbe Reaktion wie die nicht entfärbten. Es muß aber hier hervorgehoben werden, daß albuminhaltige Harne nicht reagieren.

Die Beschleunigung der Reaktion beim ausgekochten Harn muß auf die Zersetzung eines thermolabilen Körpers zurückgeführt werden, der im frischen Harne die Wirkung der Tyrosinase verlangsamt. Wie unten gezeigt wird, übt derselbe thermolabile Körper eine ähnliche Wirkung auf das Trypsin aus.

Die grüne Farbe beruht auf der Anwesenheit von Polypeptiden, wie schon früher für andere Fälle experimentell gezeigt worden ist.

In Gegenwart von Polypeptiden wird die Reaktion durch Zugabe von Glykokoll stark verlangsamt. Auch im Harn wird durch Zusatz von Aminoessigsäure die Wirkung der Tyrosinase auf Polypeptide deutlich abgeschwächt, wie durch den Vergleich mit Kontrollexperimenten leicht festzustellen ist.

Wir haben nun andere Versuche angestellt, um das Vorhandensein von Polypeptiden im normalen Harn, durch welche die oben beschriebene p-Kresol-Tyrosinase-Reaktion zustande kommt, noch klarer hervortreten zu lassen.

Wie bekannt, werden die meisten natürlichen Polypeptide durch Trypsin oder Darmsaft hydrolysiert. Enthält normaler Harn solche Polypeptide, so muß derselbe nach Einwirkung von Trypsin, d. h. nach der Spaltung dieser hochgradigen

Körper und ihrer Überführung in einfachere Peptide, mit dem genannten Reagens, eine andere Farbe liefern, d. h. der Farbstoff müßte den entsprechenden Aminosäuren gemäß sich entwickeln.

Diese Voraussetzung wurde durch eine Reihe von Versuchen und nach folgendem Schema bestätigt:

1. Harn . . . . . 8 ccm	2. Harn (gekocht) 8 ccm
Trypsinlösung 4 ccm	Trypsinlösung 4 ccm

3. Harn (gekocht) . . . . 8 ccm
Trypsinlösung (gekocht) 4 ccm

Durch Zusatz von Na_2CO_3 wurde der Harn leicht alkalisch gemacht, um die Wirkung des Trypsins zu ermöglichen. Angewandt wurde frisches Trypsin (Merck) zu $^1/_{100}$. Nach 1, 2, 3, 4, 6 Tagen haben wir von diesen Verdauungsgemischen je 2 ccm entnommen und behufs Sistierung der Wirksamkeit des Trypsins kurz gekocht und dann wie oben zum Nachweis von Peptiden verfahren.

Nach 5 Minuten sind alle Versuche rot geworden. — 2 Stunden: Die Versuche, in denen das Trypsin 6 Tage gewirkt hat, sind rotgrün geworden (Nr. 1); rot (Nr. 2).

4 Stunden: Versuch Nr. 1: Nach 1, 2, 3, 4 Tagen geben die Versuche Nr. 1 eine braungrüne Farbe; die größte Intensität entspricht der 4tägigen Einwirkung — Versuch Nr. 2: grünviolett (1. Tag), intensivere Farbe (2. Tag); braungrün (3. Tag); olivengrün (4. Tag).

Die Versuche Nr. 3 bleiben rot oder bilden einen schwachen grünen Anflug.

Nach 24 Stunden: Versuch Nr. 1 malachitgrün, die Intensität ist proportionell der Einwirkungszeit des Trypsins.

Versuch Nr. 2: blaugrün (1. Tag), blaugrau (2. Tag), tintenblau (3. Tag), intensivere Färbung (4. Tag), blauschwarz (6. Tag).

Daraus ziehen wir den Schluß, daß durch die Einwirkung des Trypsins polypeptidartige Körper gespalten worden sind, was an der gesteigerten Intensität der Farbe bemerkt wird. Diese Einwirkung ist besonders bemerkbar in den Versuchen Nr. 2, wo die Spaltung bis zu dem Grade geführt worden ist, in welchem einfache Peptide nachweisbar sind, was an der blauen Farbe des Gemisches zu ersehen ist.

Diese Versuche scheinen uns bestimmt für das Vorhandensein von Polypeptiden im normalen Harn zu sprechen.

Man könnte aber einwenden, daß durch seinen Gehalt an Aminosäuren das Trypsin an und für sich diese Steigerung der Intensität der Reaktion geben könne. Es ist ja sicher, daß die meisten Fermente und folglich auch das Trypsin von peptidartigen Körpern begleitet sind. Aber der Versuch Nr. 3, in welchem das Trypsin durch Kochen unwirksam gemacht worden ist und in welchem die p-Kresol-Tyrosinase-Reaktion viel schwächer ausfällt als in den zwei anderen, namentlich anders sich färbt als der Versuch Nr. 2, läßt für eine solche Deutung keinen Platz.

Wir haben außerdem mit entsprechenden Mengen von gekochten und ungekochten Trypsinlösungen Versuche angestellt, um die Intensität der eigenen Trypsinwirkung in bezug auf Peptide zu ermitteln, in Gegenwart von p-Kresol-Tyrosinase. Nach 6 Stunden bekommt man eine schwach braune Farbe mit aktivem Trypsin und eine schwach grüne Farbe mit gekochtem Trypsin. Nach 16 Stunden waren die Farben schmutzig-bräunlich bzw. schmutzig-grün. Da aber diese Farbentöne an der Farbe der vorigen Versuche keinen wichtigen Anteil haben können, so folgt klar daraus, daß der Einwand nicht stichhaltig ist.

Die Differenz zwischen den Versuchen mit gekochtem und ungekochtem Harn, unter Bevorzugung des ersteren, scheint auf das Vorhandensein eines thermolabilen negativen Co-Fermentes hinzudeuten, das sowohl die Wirkung der Tyrosinase wie die des Trypsins verlangsamt.

Wie bekannt, übt Tyrosinase schon allein einen Einfluß nicht nur auf das Tyrosin (rote Farbe mit nachträglicher Melaninbildung) aus, sondern auch auf tyrosinhaltige Peptide. Dieses Ferment eignet sich also vorzüglich zum Nachweis solcher Körper im Harne, wenn dieselben vorhanden sind. Es hat aber unter den vielen untersuchten Harnen nicht ein einziger eine positive Reaktion gegeben. Somit folgt daraus, daß den untersuchten Harnen und wohl auch im allgemeinen den normalen Harnen überhaupt freie tyrosinhaltige Peptide und Tyrosin fehlen.

Zur annähernden Bestimmung der Quantität dieser harneigenen Polypeptide kann die Konzentration des p-Kresols, die

nötig ist, um die charakteristische Reaktion hervorzubringen, benutzt werden.

Wie bekannt, ist zur Bildung eines grünen bzw. eines blauen Farbenumschlages eine Menge von Aminosäuren nötig, die in den gewöhnlichen Versuchen ein Vielfaches des angewandten p-Kresols sein muß. (In den meisten Versuchen ist das Verhältnis 1 : 3 [molar].) Da in den oben beschriebenen Versuchen die p-Kresolkonzentration $^1/_{250}$ und nach der Verdünnung mit dem Urin und der Fermentlösung $^1/_{1250}$ ist, kann die Menge der Polypeptide 1 bis 2 $^0/_{00}$ nicht viel überschreiten.

In einer späteren Arbeit wollen wir die quantitative Methode ausarbeiten.

Es wurden weitere Versuche angestellt, um den Einfluß der Harnkonzentration zu bestimmen:

	1.	2.	3.	4.
Harn	1 ccm	2 ccm	3 ccm	4 ccm
Wasser	3 „	2 „	1 „	0 „
p-Kresol . . .	1 „	1 „	1 „	1 „
Tyrosinase . .	1 „	1 „	1 „	1 „

Mit ungekochtem Harn rötet sich die Flüssigkeit aller Versuche nach 5 Minuten, aber die Intensität fällt von 1 bis 4. Ein Überschuß an Aminosäuren oder Polypeptiden kann eine Verlangsamung nicht hervorbringen. Wir müssen somit annehmen, daß im Harn ein negatives Co-Ferment existiert, das der Konzentration proportional hemmend wirkt.

Mit gekochtem Harn bekommt man entgegengesetzte Resultate. Nr. 1 färbt sich später als Nr. 2, 3 und 4. Nach 8 Stunden ist Nr. 1 noch rot mit grünlichem Anflug, Nr. 2 stark rotgrün, bei Nr. 3 die Farbe intensiver als bei 2, Nr. 4 rotbraungrün.

In diesen letzten Versuchen ist somit die Wirkung annähernd proportional der Konzentration; das entgegengesetzte Resultat mit ungekochtem Harn kann also nur auf die Anwesenheit eines thermolabilen Körpers, der die Tyrosinasereaktion im Verhältnis zu seiner Konzentration hemmt, zurückgeführt werden. Harnstoff übt keinen merklichen Einfluß, verschiebt also das Gleichgewicht der Reaktion nach keiner Seite.

Es sei hier noch kurz auf Versuche hingewiesen, die noch nicht zum Abschluß gelangt sind und die wir auf pathologische

Harne ausdehnen wollen. Den Herren Prof. Dr. Beuttner und Prof. Dr. Kummer, sowie den Herren Apothekern Dr. A. Brun und C. Maret sind wir zum Danke verpflichtet für die Bereitwilligkeit, mit der sie uns das nötige Material verschafft haben.

Harn von Krebskranken verhält sich wie normaler Urin. Albuminhaltige Harne hingegen geben eine fast negative Reaktion sowohl nach Filtration wie nach dem Kochen. In diesem letzten Falle ist die Färbung kaum bemerkbar, äußerst schwach und leicht bräunlich. Diese Untersuchungen werden fortgesetzt[1]).

Zusammenfassung.

1. Alle sogenannten normalen Harne reagieren positiv mit der p-Kresol-Tyrosinase-Reagens.

2. Die untersuchten Harne enthalten stets Polypeptide; es wurden aber keine tyrosinhaltigen Peptide, auch kein Tyrosin gefunden.

3. Im Harne ist ein nicht spezifischer thermolabiler Körper enthalten, der die Einwirkung der Tyrosinase sowie des Trypsins deutlich hemmt.

---

[1]) Während des Druckes konnte A. de Coulon, im hiesigen Institut, durch dieselbe Methode nachweisen, daß eine Fäulnisbakterie des Harnes die Harnpolypeptide auch hydrolisiert. Die Versuche werden verfolgt und nächstens veröffentlicht.

Über die Abhängigkeit des Gaswechsels und der Oxydationsgeschwindigkeit von dem Sauerstoffgehalt des umgebenden Mediums beim Frosch.

Von

Ernst J. Lesser.

(Aus dem Laboratorium der städtischen Krankenanstalten in Mannheim.)

(Eingegangen am 15. Juni 1914.)

Wenn man im Herbst und am Anfang des Winters an hungernden Fröschen in etwa 22stündigen Versuchen 10 Tage hintereinander täglich Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureausgabe bestimmt, so findet man an jedem Tage denselben respiratorischen Quotienten. Die pro Kilogramm Tier und Stunde aufgenommene Sauerstoffmenge (Oxydationsgeschwindigkeit) ist dagegen nicht völlig konstant, sondern kann auch bei nahezu gleicher Temperatur um 10 bis 20% schwanken. Diese Schwankungen sind wahrscheinlich durch verschieden starke Muskelbewegungen bedingt. Das Ergebnis eines solchen 11 tägigen Versuches (Oktober 1911) zeigt Tabelle I.

Tabelle I.

Datum	Temp. °C	CO_2 ccm	O_2 ccm	$\frac{CO_2}{O_2}$	Dauer Std.	Fehler im O_2		Pro kg Tier und Stunde	
						absol. ccm	%	CO_2 ccm	O_2 ccm
17. X. 11	14,3	145,1	186,8	0,777	23,5	+ 4,4	+ 2,3	28,06	36,13
18. X. 11	14,7	125,9	161,0	0,782	22,5	+ 3,6	+ 2,2	25,43	32,53
19. X. 11	14,9	225,4	283,9	0,794	22,33	– 1,8	– 0,6	45,65	57,93
20. X. 11	15,9	181,2	230,7	0,786	22,5	+ 1,1	+ 0,5	36,61	46,60
21. X. 11	16,5	172,5	223,0	0,774	21,0	+ 2,5	+ 1,1	37,34	48,25
22. X. 11	16,4	173,8	219,5	0,792	23,0	—	—	34,36	43,38
23. X. 11	16,0	161,6	203,9	0,793	22,5	+ 2,3	+ 1,1	32,65	41,19
24. X. 11	15,5	148,6	190,2	0,780	22,5	—	—	30,01	38,42
25. X. 11	15,0	125,0	154,2	0,811	22,0	+ 3,6	+ 2,3	25,83	31,86
26. X. 11	15,0	123,3	154,8	0,797	22,33	+ 3,0	+ 2,0	25,09	31,52
27. X. 11	15,3	161,6	203,8	0,793	29,0	+ 2,1	+ 1,0	25,33	31,95

Es ist nun leicht möglich, meinen Respirationsapparat bei gleichbleibendem Druck mit Gasgemischen verschiedener Zusammensetzung zu füllen. Im September 1912 wurde ein Versuch angestellt, in dem an denselben Tieren an 5 aufeinander folgenden Tagen Respirationsversuche von 8 bis 22 Stunden Dauer gemacht wurden. Das Gasgemisch im Apparat enthielt dabei nacheinander im Mittel 14,2, 5,6, 3,3, 1,8 und 18,2 % Sauerstoff. Das Ergebnis dieses Versuches zeigt Tabelle II. Selbst bei Herabsetzung des Sauerstoffgehaltes des eingeatmeten Gases auf 3,3 % bleibt die pro Kilogramm und Stunde aufgenommene Sauerstoffmenge unverändert. Wir finden, daß bei 14,2 % Sauerstoff in der umgebenden Atmosphäre 49,96 ccm Sauerstoff, bei 5,7 % Sauerstoff 50,66 ccm und bei 3,3 % Sauerstoff 48,82 ccm pro Kilogramm Tier und Stunde aufgenommen werden. Die mittleren Temperaturen des Versuches schwanken dabei nur um 0,9°.

Tabelle II.

Datum 1912	Temp. °C	Dauer des Versuchs Std.	Gehalt des Gases an O_2 %	Sauerstoffaufnahme (absolut) ccm	Fehler d. O_2-Bestimmung absol.	Fehler d. O_2-Bestimmung %	Kohlensäureausgabe (abs.) ccm	Pro kg Tier und Stunde CO_2-Abgabe	Pro kg Tier und Stunde O_2-Aufnahme	Respirat. Quotient
27. IX.	14,1	21,5	14,20	132,1	+ 0,8	+ 0,6	109,7	41,50	49,96	0,830
28. IX.	15,0	24,2	5,64	151,1	+ 5,4	+ 3,6	135,3	45,37	50,66	0,896
29. IX.	14,9	22,0	3,26	132,1	+ 7,6	+ 5,7	135,3	50,00	48,82	1,02
30. IX. a)	15,2	7,75	1,84	17,35	+ 4,2	+ 24,2	40,88	42,88	18,20	2,40
30. IX. b)	15,6	24,25	18,25	206,3	− 0,2	− 0,1	150,3	50,39	69,18	0,728

Der Versuch stimmt also mit den an zahlreichen Arten von Tieren unternommenen Bestimmungen überein, aus denen hervorgeht, daß oberhalb einer gewissen Grenze die Höhe des Partialdruckes des Sauerstoffes gleichgültig für die Oxydationsgeschwindigkeit ist. Diese Grenze liegt beim Frosch mit 2,8 % Sauerstoff bei 15° verhältnismäßig sehr niedrig. Aber auch bei 22stündiger Versuchsdauer ist hier ein Einfluß auf die Oxydationsgeschwindigkeit nicht zu bemerken.

Die gleichzeitige bedeutende Änderung des respiratorischen Quotienten zeigt indessen, daß die Verbrennungsprozesse trotzdem nicht unabhängig vom Partialdrucke des Sauerstoffes sind. Bereits bei einem Herabdrücken des Sauerstoffgehaltes der um-

gebenden Atmosphäre auf 5,6 % sieht man ein beträchtliches Steigen des respiratorischen Quotienten, das bei der außerordentlichen Konstanz dieser Größe beim Frosch um diese Jahreszeit sonst niemals gefunden wird. Beim Herabgehen auf 3,3 % Sauerstoff steigt der respiratorische Quotient noch stärker und überschreitet sogar die Einheit etwas. Indessen liegt die Größe, um die die Einheit überschritten wird, in der Fehlergrenze. Man hat häufig solche Erhöhungen des respiratorischen Quotienten durch die Annahme zu erklären versucht, es werde Kohlensäure aus Vorräten des Körpers ausgetrieben und so der respiratorische Quotient sozusagen gefälscht. Nicht die Kohlensäurebildung sei vermehrt durch Änderung der verbrannten organischen Substanz, sondern nur die Kohlensäureabgabe infolge Änderung des physikalisch-chemischen Milieus (durch Bildung von organischen Säuren, insbesondere Milchsäure). Diese Annahme ist im vorliegenden Falle nicht anwendbar. Man sieht nämlich nicht ein, warum bei herabgesetztem Partialdrucke des Sauerstoffes, aber gleichbleibender Oxydationsgeschwindigkeit die postulierten organischen Säuren entstehen sollen. Es ist bisher nicht bewiesen, daß Milchsäurebildung beim Frosch stattfindet, solange die Oxydationsgeschwindigkeit unverändert ist, mit anderen Worten kein „Sauerstoffmangel" besteht. Aber auch eine Säurebildung kann meiner Meinung nach das Steigen des respiratorischen Quotienten nicht erklären; denn die beiden Versuche, die direkt hintereinander gemacht wurden, dauerten zusammen 48 Stunden. Es ist schwer, sich zu denken, daß 48 Stunden lang, und zwar am zweiten Tage mehr als am ersten, präformierte Kohlensäure ausgetrieben werden soll. Bei so langer Versuchsdauer kann der respiratorische Quotient durch ausgetriebene präformierte Kohlensäure nicht gefälscht sein. Also kann der respiratorische Quotient nur durch stärkere Beteiligung der Kohlenhydrate an der Verbrennung erklärt werden. Die Herabsetzung des Sauerstoffdruckes in der Atmungsluft hat auch den Sauerstoffdruck in der Zelle herabgesetzt; dadurch hat die Hydrolysengeschwindigkeit des Glykogens zugenommen, und das auf diese Weise mobilisierte Glykogen ist (völlig?) verbrannt worden und hat zu einer Steigerung des respiratorischen Quotienten geführt. Der Versuch beweist mithin, daß

die Hydrolysengeschwindigkeit des Glykogens beim Frosch nicht von der Oxydationsgeschwindigkeit abhängig ist, sondern vom Sauerstoffdruck in der Zelle.

Erst wenn man mit dem Sauerstoffgehalt des umgebenden Gases auf 1,8 $^0/_0$ heruntergeht, tritt Anoxybiose ein. Der respiratorische Quotient steigt auf 2,4, gleichzeitig sinkt die Sauerstoffaufnahme sehr stark und die Kohlensäureausgabe in mäßigem Grade. Jetzt ändert sich auch das Verhalten der Tiere. Nach $7^3/_4$ stündigem Aufenthalt in dem Gase, das nur 1,8 $^0/_0$ Sauerstoff enthielt, war ein Tier anoxybiotisch gelähmt, ein zweites hatte Krämpfe.

In diesem Versuche ist die absolute Sauerstoffaufnahme der Tiere so gering, daß bei der Gasanalyse und dem Respirationsversuche die unvermeidlichen Fehler prozentual ganz anders ins Gewicht fallen als bei Normalversuchen. Die Differenz zwischen berechnetem und gefundenem Sauerstoffgehalt am Ende des Versuches beträgt 4,5 ccm, die absolute Sauerstoffaufnahme 17,4 ccm; es ist dies also ein Fehler von bereits 26 $^0/_0$. Da die gleichzeitig abgegebene Kohlensäure 40,9 ccm beträgt, so ist indessen der respiratorische Quotient mindestens auf 2 anzusetzen. Nach $7^3/_4$ stündigem Aufenthalt der Tiere in einem Gasgemisch von 1,8 $^0/_0$ Sauerstoff wurden sie in nahezu normale Luft gebracht (18,2 $^0/_0$ Sauerstoff). Nunmehr stieg der Sauerstoffverbrauch sehr erheblich an, etwa um 40 $^0/_0$ der Anfangsoxydationsgeschwindigkeit, während die Kohlensäureproduktion nur etwa um 20 $^0/_0$ anwuchs. Beide aber, Kohlensäureproduktion und Sauerstoffverbrauch, sind im 24 stündigen Versuch ganz erheblich gesteigert, während der respiratorische Quotient sehr bedeutend absinkt. Dies ist darauf zu beziehen, daß in der Restitution die anoxybiotisch gebildeten Produkte oxydiert werden, die, da sie Sauerstoff und Kohlenstoff in Form anoxybiotisch gebildeter Kohlensäure bereits verloren haben, einen niedrigeren respiratorischen Quotienten ergeben müssen, als der normale ist, wie dies von Winterstein[1]) dargelegt worden ist. Der Restitutionsversuch zeigt außerdem durch Steigerung der Oxydationsgeschwindigkeit sehr deutlich, daß die Anhäufung gewisser (ihrer Konstitution nach noch unbekannter) anoxy-

---

[1]) Winterstein, Habilitationsschrift, S. 60/61. Jena 1906.

biotisch gebildeter Produkte in der Zelle zu einer Erhöhung der Oxydationsgeschwindigkeit führt.

Methode.

Die Versuche wurden mit einem Apparat nach Reignault-Reiset angestellt, wie er von mir[1]) und von Elsas[2]) beschrieben worden ist. Ich verweise bezüglich der Einzelheiten auf diese beiden Mitteilungen und lasse nunmehr die Versuchsprotokolle folgen.

27. IX. 12.

Volumen des Apparates	2354 ccm
Gewicht der Frösche .	123 g
	2231 ccm.

Frösche geliefert am 24. IX. R. esculenta.

Beginn 11^h 32′ a. m., Ende 28. IX. 9^h a. m. Dauer $21^1/_2$ Std.

Temp. des Recip. anfangs 13,9°. Barom. anfangs 758,3
" " " am Schluß 14,35°. " am Schluß 756,6.

Prozentgehalt des eingeschlossenen Gases
am Anfang 0,05 % CO_2, 14,725 % O_2,
" Schluß 0,05 % CO_2, 13,675 % O_2.

Reduziertes Volumen des Recip. auf

0° und Trockenheit am Anfang	2085,0 ccm
" Schluß	2076,1 "
Abnahme	8,9 ccm.

Inhalt des Gasometers reduziert auf 0° und Trockenheit

zu Beginn	1494,7 ccm
am Ende	1371,5 "
Gaszufluß	123,2 ccm.

Das Gas enthielt 12,2 % N_2, mithin in 123,2 15,00 ccm N_2.

Gaszufluß	123,2 ccm
Korrektur für Temp. und Barom.	8,9 "
O_2-Verbrauch	132,1 ccm.

[1]) Zeitschr. f. Biol. 54, 1.
[2]) Zeitschr. f. Biol. 62, 1.

Im Recip. am Anfang vorhanden
nach Gasanalyse . . 307,0 ccm O_2
+ Zufluß . . . . . 108,2 „ „
Gesamt . . . . . . 415,2 ccm O_2
— Verbrauch . . . . 132,1 „ „
am Schluß vorhanden 283,1 ccm O_2 berechnet
283,9 „ „ gefunden
+ 0,8 ccm.

CO_2 im Baryt = 109,7 ccm.
Resp. Quot. 0,83.
CO_2 pro Kilogramm Tier und Std. 41,50 ccm.
O_2 „ „ „ „ „ 49,96 „

28. IX.
Beginn 10^h 7′ a. m. Ende 29. IX. 10^h 17′.
Temp. am Beginn 14,4°. Barom. 756,4
„ „ Ende 15,5°. „ 756,9.

Prozentgehalt des eingeschlossenen Gases
am Anfang 0,025 % CO_2, 6,184 % O_2
„ Schluß 0,05 % „ 5,192 % „
Reduziertes Vol. des Recip. ante 2075,0 ccm
„ „ „ „ post 2066,0 „
Abnahme 9,0 ccm.

Volumen des Gasometers reduziert
am Anfang . . . . 1369,4 ccm
„ Ende . . . . 1227,3 „
Zufluß in den Apparat . . . . 142,1 ccm
+ Korrektur für Temp. und Barom. 9,0 „
Sauerstoffverbrauch . . . . . . 151,1 ccm.

In 142,1 ccm Gas sind enthalten 12,2 % N_2, mithin 17,3 ccm.

Anfangs im Recip.
enthalten . . . . . 128,25 ccm O_2
+ Zufluß . . . . . 124,8 „ „
253,05 ccm O_2
— Verbrauch . . . 151,5 „ „
am Ende vorhanden 101,95 ccm O_2 berechnet
107,3 „ „ gefunden
+ 5,35 ccm O_2 gefunden.

CO_2 im Baryt 135,3 ccm.

Resp. Quot. 0,896.

CO_2 pro Kilogramm Tier und Std. 45,37 ccm.

O_2 „ „ „ „ . „ 50,66 „

29. IX.

Wieder begonnen um 12^h, bis dahin befanden sich die Tiere (von $10^h 45'$ bis 12^h) in einer Atmosphäre, die sicher weniger als 6 % O_2 enthielt.

Beendet 30. IX. 10^h.

Temp. am Beginn 14,8°. Barom. 756,55
„ „ Ende 15,0°. „ 752,6.

Prozentgehalt des eingeschlossenen Gases
am Anfang 0,05 % CO_2, 3,737 % O_2
„ Ende 0,025 % „ 2,797 % „

Volumen des Apparates reduziert am Anfang 2071,5 ccm
„ „ „ „ „ Ende 2058,6 „
Abnahme 12,9 ccm.

Inhalt des Gasometers am Anfang 1219,8 ccm O_2
„ „ „ „ Ende 1100,6 „ „
119,2 ccm O_2,

darin sind enthalten 14,5 ccm N_2.

Anfangs im Recip. enthalten	77,4 ccm O_2	
+ Zufluß	104,7 „ „	
	182,1 ccm O_2	
— Verbrauch	132,1 „ „	
demnach am Ende	50,0 ccm O_2	berechnet
. . . .	57,6 „ „	gefunden
Differenz	+ 7,6 ccm O_2.	

CO_2 im Baryt 135,3 ccm.

Respirat. Quot. 1,024.

Pro Kilogramm Tier und Std. 50,00 ccm CO_2
„ „ „ „ „ 48,82 „ O_2.

30. IX.

$11^h 28'$ wieder begonnen. $7^h 12'$ p. m. beendet.

Temp. am Beginn des Versuches 15,05°. Barom. 751,85
„ „ Ende „ „ 14,25°. „ 747,95.

Prozentgehalt des eingeschlossenen Gases
am Anfang 0,05 % CO_2, 2,040 % O_2,
" Ende 0,05 % " 1,586 % O_2.

Volumen des Apparates reduziert am Anfang 2056,15 ccm
" " " " " Ende 2052,75 "
Abnahme 3,4 ccm

Inhalt des Gasometers am Anfang 1097,2 ccm
" " " " Ende 1083,25 "

O_2-Zufluß . . . . 13,95 ccm
+ Korrektur für Temp. und Barom. 3,4 "
O_2-Verbrauch . . . . 17,35 ccm.

Anfangs im Apparat enthalten 41,9 ccm O_2
+ Zufluß . . . . 12,25 " "
54,15 ccm O_2
— Verbrauch . . . . 17,35 " "
Am Schluß . . . . 36,80 ccm O_2 berechnet
32,6 " " gefunden
Differenz + 4,2 ccm O_2.

CO_2 im Baryt 40,88 ccm.

Respirat. Quot. 2,40.

CO_2 pro Kilogramm Tier und Std. 42,88 ccm
O_2 " " " " " 18,2 "

30. IX.

8^h p. m. wieder begonnen.

1. X. 8^h 18′ p. m. beendet.

Temp. des Recip. am Anfang 14,25°. Barom. 747,7
" " " " Ende 16,95°. " 740,8.

Prozentgehalt des Gases am Anfang 19,691 % O_2, 0,075 % CO_2
" " " " Ende 16,815 % " 0,2 % "

Reduziertes Volumen des Apparates am Anfang 2052,0 ccm
" " " " " Ende 2007,6 "
— 44,4 ccm.

Inhalt des Gasometers am Anfang 1069,9 ccm O_2
" " " " Ende 910,5 " "

O_2-Zufluß . . . . 159,4 ccm O_2 {darin 12,2 % N = 19,4 ccm
+ Temp. Barom. . . . . 44,4 " "
+ CO_2-Korrektur . . . . . . 2,5 " "
O_2-Verbrauch . . . . 206,3 ccm O_2.

Anfangs im Apparat enthalten	404,1 ccm O_2	
+ Zufluß	140,0 „ „	
	544,1 ccm O_2	
— Verbrauch	206,3 „ „	
Gehalt am Schluß	337,8 „ „	berechnet
	337,6 „ „	gefunden
Differenz	0,2 ccm O_2.	

Im Baryt	147,8 ccm CO_2
Im Apparat am Schluß mehr als am Anfang	2,5 „ „
CO_2 produziert	150,3 ccm CO_2

Resp. Quot. 0,728.

Pro Kilogramm Tier und Std. 50,39 ccm CO_2
„ „ „ „ „ 69,18 „ „

Über die Wirkung von Moderatoren (Puffern) bei der Verschiebung des Säure-Basengleichgewichtes in biologischen Flüssigkeiten.

Von

Max Koppel und K. Spiro.

(Aus dem Physiologisch-chemischen Institut der Universität Straßburg i. E.)

(Eingegangen am 15. Juni 1914.)

Mit 11 Figuren im Text.

Bei der Untersuchung der meisten biologischen Flüssigkeiten auf ihre chemische Reaktion ergibt sich als auffallendste Tatsache ihre Eigenschaft, daß sie zwar fast neutral reagieren, trotzdem aber beträchtliche Mengen von Säuren und zugleich von Basen zu neutralisieren vermögen. Während man bei chemischen Arbeiten gewöhnt ist, nur denjenigen Lösungen ein Neutralisationsvermögen für Säuren zuzuschreiben, die einen entsprechenden Gehalt an Alkali besitzen und umgekehrt, haben wir beispielsweise im Blut und im Harn Lösungen vor uns, die durch ihre Reaktion weder einen beträchtlichen Basen- noch Säuregehalt verraten und die doch Säuren wie Basen aufzunehmen vermögen, ohne daß ihre Reaktion sich dabei erheblich verschiebt. Was das Verhalten solcher Flüssigkeiten bemerkenswert macht, sind also zwei Eigenschaften: Erstens die Fähigkeit, nach zwei Richtungen hin, sowohl nach der sauren wie nach der alkalischen Seite, neutralisierend zu wirken, und zweitens der Umstand, daß in diesen Lösungen bei Säure- bzw. Alkalizusatz weit geringere Reaktionsverschiebungen auftreten, als in den gewöhnlichen Salzlösungen oder in reinem Wasser. Diese Eigenschaft, den irgendwie herbeigeführten Reaktionsverschiebungen einen gewissen Widerstand entgegenzusetzen, hat man sich gewöhnt, als Pufferwirkung zu bezeichnen.

Mit dem Ausdruck Pufferwirkung, der von Hubert und Fernbach herrührt, soll gesagt werden, daß die betreffenden Stoffe bei Verschiebungen und Schwankungen der Reaktion mäßigend wirken; man könnte deswegen solche Substanzen wohl besser als Moderatoren bezeichnen.

Nachdem man erkannt hat, eine wie große Rolle diese Moderatorenwirkung für die Aciditätsverhältnisse der gesamten lebenden Substanz spielt, und nachdem man sich der Moderatoren auch zu experimentellen Zwecken in weitem Maße zu bedienen gelernt hat[1]), scheint es uns nicht unangebracht, zu untersuchen, inwieweit sich das, was man als Pufferwirkung zu bezeichnen pflegt, auf Grund exakter Definitionen entwickeln und rechnerisch verfolgen läßt. Wir haben also zu fragen: Was ist Pufferwirkung? Worauf beruht sie und wie kann sie gemessen werden?

Es soll daher im folgenden die Theorie gewisser Ionengleichgewichte entwickelt werden, deren spezielle Natur weiter unten anzugeben sein wird. Da indessen diese Entwicklungen einige mathematische Hilfsmittel erfordern, die einerseits unerläßlich sind, andererseits die Darstellung unübersichtlich machen würden, so wollen wir unseren Stoff in zwei Teile einteilen, in deren erstem nur die nötigen Definitionen und die aus der Theorie sich ergebenden Sätze dargestellt werden, während in einem zweiten Teile die eigentlichen Herleitungen und Beweise gegeben werden sollen.

Erster Teil.

Es braucht wohl nicht erst ausdrücklich bemerkt zu werden, daß alle folgenden Auseinandersetzungen vollständig auf dem Boden der Ionenlehre und der Lehre vom chemischen Gleichgewicht stehen, daß wir also als Maß der Acidität bzw. Alkalescenz einer Lösung immer die Wasserstoffionenkonzentration derselben verstehen wollen. Es sei daher nur kurz darauf hingewiesen, daß wir demnach jeder Lösung eine bestimmte Acidität, nämlich die Wasserstoffionenkonzentration $[H^{\cdot}]$ und gleich-

[1]) Die umfangreiche Literatur über den Gegenstand findet sich ziemlich vollständig in den ausgezeichneten Zusammenstellungen von Sörensen, Ergebnisse der Physiologie 1912, und von L. Michaelis, Handb. d. Biochemie (Oppenheimer), Erg.-Bd. 1913.

zeitig eine bestimmte Alkalescenz, nämlich die Hydroxylionenkonzentration [OH′] zuzuschreiben haben, wobei stets die Gleichung erfüllt sein muß $[H^{\cdot}] \times [OH'] = k_w = 10^{-14,14}$. Die Größe k_w heißt die Dissoziationskonstante des Wassers.

Indem wir nun die Stärke einer Säure oder Base beurteilen nach ihrer Fähigkeit, Wasserstoff- bzw. Hydroxylionen abzudissoziieren, haben wir zu unterscheiden zwischen starken Säuren, d. h. solchen, die in hinreichend verdünnter Lösung praktisch vollständig in ihre Ionen zerfallen sind, und schwachen Säuren, bei denen dieses nicht der Fall ist. Dasselbe gilt mutatis mutandis für Basen. Eine wichtige Tatsache muß hier gleich hervorgehoben werden: Der Zerfall einer schwachen Säure bzw. Base in ihre Ionen gehorcht dem Gesetz der chemischen Massenwirkung, dies gilt aber nicht für die starken Säuren, so daß deren Ionengleichgewichte nicht berechnet werden können. Es muß also entweder die Dissoziation der starken Elektrolyte als total angesehen werden oder man muß auf die theoretische Behandlung der entsprechenden Lösungen verzichten. Wir werden auf diese Alternative noch zurückzukommen haben.

Hier mag einstweilen die Feststellung genügen, daß die gegebene Definition der starken Elektrolyte auf die bekannten starken Säuren und Basen wie HCl, HNO_3, H_2SO_4, KOH, NaOH zutrifft, während Phosphorsäure, Kohlensäure, Ammoniak und die meisten organischen Säuren zu den schwachen Elektrolyten gerechnet werden müssen. Wenn also im folgenden kurz von starken Säuren oder Basen die Rede ist, so sind dieselben zunächst immer in solchen Verdünnungen vorausgesetzt, daß ihre Dissoziation als vollständig angesehen werden kann.

Wenn wir nun zu reinem Wasser, welches neutral reagiert ($[H^{\cdot}] = [OH'] = 10^{-7,07}$) eine gewisse Menge Säure bzw. Base hinzufügen, so nimmt die Lösung einen bestimmten Aciditätsgrad an. Messen wir mit Sörensen die Wasserstoffionenkonzentration durch den negativen Logarithmus ihres Betrages $p = -\log [H^{\cdot}]$, so können wir sagen: p verschiebt sich durch den Säurezusatz vom Werte des Neutralpunktes 7,07 nach einem bestimmten anderen Wert. Wie im zweiten Teil gezeigt wird, ist das Verhältnis zwischen der zugesetzten Säuremenge und der dadurch erreichten Verschiebung von p nicht etwa konstant, sondern hängt wesentlich von der Gesamtgröße der

Verschiebung ab. Mit anderen Worten: Die Abhängigkeit des p von der Säuremenge S ist nicht linear. Da also das Verhältnis der Verschiebung dieser beiden Größen von Punkt zu Punkt seinen Wert ändert, so kann von einem bestimmten Wert dieses Verhältnisses nur an einem bestimmten Punkt gesprochen werden, und das natürlich auch nur dann, wenn die Verschiebungen selbst verschwindend klein werden. Unter dieser letzten Voraussetzung kann aber jedem Punkt, d. h. jedem Wert von p ein bestimmter Wert des Verhältnisses $\frac{\Delta S}{\Delta p}$ zugeordnet werden, und es ergibt sich, daß diese Zuordnung abhängig ist von den in der Lösung vorhandenen starken Elektrolyten. Für eine solche Lösung von bekanntem p können wir demnach im voraus angeben, wieviel von einer starken Säure oder Base hinzugefügt werden muß, um eine vorgeschriebene (kleine) Reaktionsverschiebung zu erreichen, wobei die spezielle Natur der anwesenden starken Elektrolyte gleichgültig ist.

Nicht so bei Lösungen, welche zugleich auch schwache Elektrolyte enthalten. Hier ist, wie weiterhin ausführlich gezeigt werden soll, der für eine bestimmte Reaktionsverschiebung notwendige Säurezusatz im allgemeinen größer, als demselben Wert von p in Lösungen von nur starken Elektrolyten entspricht. Dies ist nun das Wesen der Moderation. Wir bezeichnen als Moderation (Pufferwirkung) die Eigenschaft von Lösungen, für eine bestimmte Reaktionsverschiebung größere Säure- bzw. Alkalimengen zu benötigen, als eine Lösung von nur starken Elektrolyten bei gleicher Wasserstoffionenkonzentration erfordern würde.

Es wird noch mit einigen Worten darauf einzugehen sein, warum wir den stark dissoziierten Elektrolyten eine derartige Sonderstellung einräumen. Es ist ja a priori klar, daß zwischen den starken und den schwachen Elektrolyten kein prinzipieller, sondern nur ein gradueller Unterschied besteht. Während wir aber bei den letzteren mit den Gleichgewichten der Ionen zu rechnen haben, ist im Idealfall der starken Säuren und Basen jedes Ion für sich vorhanden, es treten überhaupt keine Ionenreaktionen ein, mit der einzigen Ausnahme der Dissoziation des Wassers entsprechend der Gleichung $[H^{\cdot}].[OH'] = k_w$. Wir können also in einer solchen Lösung alle übrigen Ionen, mit

Ausnahme derjenigen des Wassers, $H^{\cdot}$ und OH' vernachlässigen und haben damit die einfachsten Verhältnisse, auf welche wir alle anderen beziehen können. Eine etwas eingehendere Behandlung der Lösungen mit nur total dissoziierten Elektrolyten soll im zweiten Teile dieser Arbeit gegeben werden.

Die bisher gegebene Definition der Moderation ist rein qualitativer Art. Die weitere Untersuchung muß nun darauf gerichtet sein, ein Maß für die Pufferwirkung einzuführen. In der Literatur ist häufig von starken und schwachen oder auch von „guten" und „schlechten" Puffern die Rede, ohne daß indessen ein exaktes Maß der Pufferwirkung existieren würde. Wir haben oben erwähnt, daß in einer Lösung, welche Puffer enthält, das Verhältnis $\frac{\Delta S}{\Delta p}$ größer ist als in einer pufferfreien Lösung, d. h. in einer solchen, die nur total dissoziierte Elektolyte enthält. Als Größe der Moderation definieren wir nun die Differenz zwischen den beiden Verhältnissen, d. h. die Größe $\frac{\Delta S}{\Delta p} - \frac{\Delta S_0}{\Delta p}$ oder $\frac{\Delta (S-S_0)}{\Delta p}$, wobei sich S_0 auf eine gedachte pufferfreie Lösung von gleichem p-Wert bezieht, und setzen sie gleich P. Unter der Größe der Moderation verstehen wir also den Quotienten aus einerseits dem Plus an Säure bzw. Alkali, welches die Lösung für eine bestimmte Reaktionsverschiebung mehr braucht als eine pufferfreie Lösung und andererseits der entsprechenden Änderung des Wasserstoffionenexponenten, wobei die Reaktionsverschiebung selbst sehr klein sein soll.

Aus dieser Definition, die dem Sinne nach einfacher ist als den Worten nach, können wir schon ohne nähere Untersuchung einiges ablesen. Zunächst ist die Größe P für moderatorenfreie Lösungen identisch gleich Null, indem hier S und S_0 zusammenfallen. Ferner wird P für eine bestimmte Flüssigkeit im allgemeinen keine Konstante sein, sondern sich ändern, wenn man die Reaktion der Lösung durch Zusatz einer starken Säure oder Base verändert. Da bei sehr starkem Zusatz solcher Stoffe schließlich der Einfluß der Moderatoren auf die Wasserstoffionen hinter demjenigen der Säure bzw. Base verschwinden muß, so muß P, falls es ein brauchbares Maß für die Moderatorenwirkung darstellen soll, für sehr große Aciditäten sowie

auch für große Alkalescenzen sich dem Werte 0 nähern. P muß also für einen mittleren Wert ein Maximum besitzen. Daß diese Forderungen tatsächlich erfüllt sind, wird sich später erweisen.

Um zunächst die wichtige Frage zu erledigen, welche Substanzen nun eigentlich in einer Lösung als Moderatoren in Betracht kommen können, soll der Wert der Größe P für eine Reihe von Lösungstypen untersucht werden.

Setzen wir voraus, daß in einer Lösung außer stark dissoziierten Elektrolyten nur eine einbasische schwache Säure von der Dissoziationskonstante k_s und der Äquivalentkonzentration A vorhanden sei, so erhalten wir für P den Wert $P = -\frac{A k_s x}{(k_s + x)^2} \ln 10$. (Hierbei ist zur größeren Bequemlichkeit die Wasserstoffionenkonzentration mit dem Buchstaben x bezeichnet.) Aus der Formel lassen sich sofort folgende Sätze ablesen: Die Stärke der Moderation ist proportional der Äquivalentkonzentration der Säure. Sie wird sowohl für sehr große x, d. h. für stark saure Lösungen, als auch für sehr kleine x, d. h. stark alkalische Lösungen, verschwindend klein (s. oben). Das Maximum findet sich bei $x = k_s$, d. h. eine einbasische Säure zeigt das Maximum ihrer Pufferwirkung bei einer Wasserstoffionenkonzentration, die numerisch gleich ist dem Werte ihrer Dissoziationskonstanten. Von der Säure ist dann gerade die Hälfte in freier Form, die andere Hälfte in Form ihres Salzes vorhanden. Man versteht jetzt warum alle Moderatoren nur für ein gewisses Gebiet von p „gut" wirken. Die Wirkung hat in der Umgebung von $[H^{\cdot}] = k_s$ ihre größten Werte und nimmt nach beiden Seiten ab, um bei extremen Reaktionen, wenn die wirksame Säure entweder ganz in freier Form oder ganz in Form ihres Salzes vorliegt, einen verschwindend kleinen Wert anzunehmen. Danach erscheint als wesentlich für das Zustandekommen der Pufferwirkung das Nebeneinander einer schwachen Säure und eines ihrer Salze. Tatsächlich liegt, wie ein Blick auf die Herleitung der Formel (s. d. zweiten Teil) lehrt, der tiefere Grund der ganzen Erscheinung darin, daß die freie Säure nur zum kleinen Teil, ihr Salz aber praktisch vollständig dissoziiert ist.

Nachdem wir so die Existenz des Maximums der Mode-

ration und seine Lage in Übereinstimmung mit der experimentellen Erfahrung gefunden haben, bleibt festzustellen, wie groß denn die Pufferwirkung im Maximum werden kann. Die oben gegebene Formel liefert sofort für $x = k_s$ den Ausdruck $P = -\frac{A}{4} \ln 10$.

Wie man sieht, fällt in diesem Ausdruck die Größe k_s heraus. Da außer der Äquivalentkonzentration auch keine andere von der Natur der schwachen Säure abhängige Größe vorkommt, so läßt sich der wichtige Satz aussprechen: Die maximale Pufferwirkung aller schwachen Säuren gleicher Äquivalentkonzentrationen ist die gleiche und ist proportional der letzteren. Für eine Normal-Säure ist $P = -\frac{\ln 10}{4}$.

Es ergibt sich also das auffallende Resultat, daß man kein Recht hat, von starken und schwachen Puffern zu sprechen, sondern daß sich die Pufferwirkungen, abgesehen von der Konzentration, nur durch ihre Lage in der Reihe der p-Werte unterscheiden. Wenn wir daher von starken und schwachen Puffern sprechen wollen, so kann dies immer nur für bestimmte Gebiete gemeint sein, insofern alle Säuren in demjenigen Gebiete besonders starke Moderatoren sind, in welchem die Wasserstoffionenkonzentration numerisch gleich der Säuredissoziationskonstante ist. Daß der Maximalwert gerade gleich $\frac{\ln 10}{4}$ wird, ist natürlich eine Folge der Anwendung des logarithmischen Maßsystems. Auf die Größe $\frac{\ln 10}{4}$ hat bereits Michaelis aufmerksam gemacht, indem er zeigte, daß sie bei der Untersuchung der Dissoziationskurven unabhängig von der Natur des Elektrolyten auftritt, ohne daß er ihr allerdings eine unmittelbare Bedeutung in unserem Sinne beigelegt hätte.

Nach dem Dargelegten ist es ersichtlich, daß bei der Konstanz der Neutralität, die im Organismus im allgemeinen herrscht, gerade diejenigen Säuren an der Reaktionsregulierung am meisten beteiligt sein werden, deren k_s etwa den Wert 10^{-7} hat, wie z. B. Phosphorsäure und Kohlensäure. Henderson hat versucht, diese Tatsache rechnerisch herzuleiten, doch können wir seine

Ableitung nicht für richtig halten, so daß wir dasselbe Resultat auf Grund unserer Berechnung hier nochmals anführen.

Indem wir dieselben Überlegungen, die uns zu obigen Resultaten geführt haben, nun auf schwach dissoziierte Basen anwenden, gelangen wir (siehe Teil II) zu ganz analogen Formeln, nur daß hier statt der Säuredissoziationskonstante die Basendissoziationskonstante und statt der Wasserstoffionenkonzentration die Hydroxylionenkonzentration eintritt. Wir werden also den Basen dieselben Pufferwirkungen zuzuschreiben haben wie den Säuren, nur daß ihr Maximum bei einer Hydroxylionenkonzentration liegt, die numerisch der Basendissoziationskonstante gleich ist. Danach können wir übersehen, welche Basen und Säuren für die Erhaltung der Neutralität in den Geweben in Betracht kommen und insbesondere, welche dafür nicht in Betracht kommen. So sind z. B. auch die löslichen Kohlenhydrate meßbar elektrisch dissoziirt. Aus den von Michaelis mitgeteilten Dissoziationskonstanten ersieht man indessen, daß ihre Moderationswirkung erst in so stark alkalischer Reaktion wirksam werden kann, daß sie für die Neutralitätsregulierung in biologischen Flüssigkeiten völlig außer acht gelassen werden können.

Bevor wir nun zur Untersuchung der amphoteren Elektrolyte übergehen, ohne welche unsere Übersicht über die Ionengleichgewichte lückenhaft sein würde, wollen wir noch die Verhältnisse bei starken Elektrolyten kurz besprechen.

Wenn wir uns die Dissoziationskonstante einer Säure immer größer werdend denken, so wird nach dem Satz von der allgemeinen Gleichheit der Pufferwirkung diese selbst in ihrer Größe sich nicht ändern. Wohl aber wird ihr Maximum in immer stärker saure Reaktionsgebiete fallen. Nun müssen wir uns vor Augen halten, daß bei sehr starker Dissoziation die Gesetze des chemischen Gleichgewichtes für die Ionen nicht mehr zutreffen, so daß damit auch unsere mathematischen Herleitungen hinfällig werden. Eine der Moderation ähnliche Wirkung wird so lange noch bestehen, als die Dissoziation der freien Säure merklich schwächer ist, als die ihrer Salze, auch wenn das Massenwirkungsgesetz nicht mehr streng erfüllt sein sollte. Läßt sich aber eine verschieden starke Dissoziation der Säure und ihrer Salze nicht nachweisen, so haben wir auch

kein der Pufferwirkung ähnliches Verhalten mehr zu erwarten. Die letzteren Verhältnisse dürften für die gewöhnlichen Neutralsalze wie NaCl, K_2SO_4 usw. zutreffen.

Als besonders wichtigen Fall haben wir nunmehr denjenigen zu besprechen, bei dem die Moderation durch die Anwesenheit eines amphoteren Elektrolyten vermittelt wird. Ein solcher Elektrolyt ist bekanntlich imstande, sowohl H- als auch OH-Ionen abzudissoziieren. Für beide Arten der Dissoziation ist eine Konstante maßgebend, so daß die amphoteren Elektrolyte eine Säure- und eine Basendissoziationskonstante besitzen. Für die Moderation erweist sich nun das Produkt dieser beiden Konstanten $k_b \cdot k_s$ als besonders wichtig, das ja auch bei anderen Phänomenen eine für das Verhalten der Ampholyte maßgebende Rolle spielt. Wie die Untersuchung im zweiten Teile dieser Arbeit zeigen wird, hat man die Ampholyte bezüglich ihrer Moderationswirkung in zwei Klassen einzuteilen, je nachdem das Produkt $k_b \cdot k_s$ größer oder kleiner ist als $\frac{k_w}{16}$, wobei k_w die Dissoziationskonstante des Wassers darstellt; der dritte mögliche Fall, daß $k_b \cdot k_s = \frac{k_w}{16}$, besitzt nur eine theoretische Bedeutung.

1. Fall. $k_b \cdot k_s > \frac{k_w}{16}$: Die Moderation besitzt im isoelektrischen Punkte ein Maximum und weder ein zweites Maximum noch ein Minimum.

2. Fall. $k_b \cdot k_s < \frac{k_w}{16}$: Die Moderation besitzt ein Minimum im isoelektrischen Punkte, zu beiden Seiten des isoelektrischen Punktes jedoch je ein Maximum, diese beiden Maxima liegen gleichweit von dem isoelektrischen Punkte entfernt und sind gleichgroß. Ihre genaue Lage wird durch ziemlich unbequeme mathematische Ausdrücke dargestellt, doch gilt in dem Falle, daß das Produkt $k_b \cdot k_s$ gegenüber k_w verschwindend klein ist, der Satz: Die Maxima der Moderationswirkung liegen bei derjenigen Wasserstoff- bzw. Hydroxylionenkonzentration, die der Säure- bzw. Basendissoziationskonstante des Ampholyten numerisch gleich sind. So liegt für das Glykokoll, dessen $k_b = 2{,}7 \cdot 10^{-12}$ und $k_s = 1{,}8 \cdot 10^{-10}$ ist, das Minimum der Pufferwirkung bei $[H^{\cdot}] = 2{,}9 \cdot 10^{-7}$ (isoelektrischer Punkt); da nun das Produkt

$k_b \cdot k_s$ im Falle des Glykokolls gegenüber k_w verschwindend klein ist, so kann man voraussagen, daß die beiden Maxima mit großer Annäherung mit den Punkten $[H^{\cdot}] = 10^{-10}$ und $[OH'] = 10^{-12}$ zusammenfallen werden. Die beiden Maxima sind hier durch eine breite Zone getrennt, in der die Moderation dem Minimalwerte nahezu gleich ist, während dieser selbst fast gleich Null ist. Diese Zone ist die isoelektrische Zone. Über die numerischen Eigenschaften der Maxima und Minima soll die nachfolgende Tabelle einen Überblick geben.

$k_b \cdot k_s$	$=0$	$<\frac{k_w}{16}$	$=\frac{k_w}{16}$	$>\frac{k_w}{16}$	allgemein
$P_i =$	—	0 bis $\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$ bis 1	$\frac{1}{1+\sqrt{\frac{k_w}{4\,k_b \cdot k_s}}}$
$P_m =$	$\frac{1}{4}$	$\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{3}$	$\frac{1}{3}$	—	$\frac{1}{4\left(1-\frac{4\,k_b \cdot k_s}{k_w}\right)}$

P_i ist die Moderationsstärke im isoelektrischen Punkte, P_m dieselbe in den beiden seitlichen Maxima. Der Faktor $A \cdot \ln 10$ ist überall weggelassen.

Man sieht, daß die Moderationsstärke eines amphoteren Elektrolyten im Maximum, anders als bei den einfachen Säuren und Basen, von der speziellen Größe der Dissoziationskonstanten nicht unabhängig ist. Immerhin ist sie für alle diejenigen Elekrolyten gleichgroß, die in dem Produkte $k_b \cdot k_s$ übereinstimmen, z. B. auch für alle $k_b \cdot k_s = 0$, d. h. alle einfachen Säuren oder Basen. P_{max} ist im allgemeinen größer als der früher für die einfachen Elektrolyte abgeleitete Wert $\frac{A \ln 10}{4}$. Nur wenn die beiden seitlichen Maxima existieren und sehr weit auseinander liegen, d. h. wenn das Produkt $k_b \cdot k_s$ so klein ist, daß eine deutliche isoelektrische Zone besteht, erreicht die Pufferwirkung jenen Wert. Es ist ersichtlich, daß der Ampholyt sich in diesem Falle so verhält, als ob die Moderation durch zwei voneinander unabhängige einfache Elektrolyten hervorgebracht würde. Nachträglich sehen wir nun auch, daß derselbe Parallelismus auch dann besteht, wenn keine isoelektrische Zone existiert, d. h. auch für größere Werte von $k_b \cdot k_s$

Dann superponieren sich die beiden imaginären einfachen Elektrolyte in ihrer Wirkung, und so resultiert denn auch ein Maximum, das den für alle einfachen Elektrolyte gültigen Wert überschreitet. Trotz dieser Übereinstimmung im großen und ganzen liefert doch die Berechnung der Ionengleichgewichte für mehrere einfache Elektrolyte andere Ausdrücke als für einen Amphoteren.

Dagegen können wir den Satz von der Vertauschbarkeit von Basen- und Säureäquivalenten, den wir für einfache Elektrolyte bewiesen haben, in voller Strenge auf die Ampholyte übertragen. Auch bei diesen kommt es für die Moderation nicht in Betracht, ob eine Dissoziationsstufe basischer oder saurer Natur ist. So verhält sich z. B. eine zweibasische Säure genau so wie ein Ampholyt, und alle Formeln lassen sich ohne weiteres übertragen, wenn man nur k_b durch den Wert $\frac{k_w}{k_s}$ ersetzt. Der Begriff des isoelektrischen Punktes muß dabei natürlich eine entsprechende Umänderung erfahren. Ganz allgemein läßt sich für Elektrolyte mit mehreren Dissoziationsstufen der Satz aussprechen: Die Moderation eines solchen Elektrolyten ist vollständig bestimmt durch die Anzahl der vorhandenen Dissoziationsstufen und die zugehörigen Dissoziationskonstanten, die Art der Dissoziation jeder einzelnen Stufe, ob sauer oder basisch, ist dabei gleichgültig, wenn nur für die Konstanten die entsprechenden Werte eingeführt werden. Es ist daher aus dem moderatorischen Verhalten eines Elektrolyten kein Rückschluß auf seine Natur als Base oder Säure möglich, sondern es kann jede Säure bzw. Säuregruppe stets durch eine Base bzw. basische Gruppe von genau denselben neutralisatorischen Eigenschaften ersetzt gedacht werden. Dabei ist natürlich der schwachen Base immer das Salz einer schwachen Säure gleichwertig und umgekehrt.

Auf diese Verhältnisse haben schon d'Agostino und Quagliariello[1]) aufmerksam gemacht. Doch schien es uns von Wert, für diese Tatsachen einen strengen Beweis zu liefern (vgl. Teil II). Die Herleitung von d'Agostino und Quagli-

[1]) E. d'Agostino und G. Quagliariello, Arch. ital. de Biol. 58, 115.

ariello stellt nämlich im gewissen Sinne einen Circulus vitiosus dar, indem die Autoren von vornherein von der Annahme ausgehen, daß die Kurve eines mehrstufig dissoziierten Elektrolyten aus einer entsprechenden Anzahl von Kurven einstufiger Moderatoren zusammengesetzt werden kann, eine Voraussetzung, in der die Vertauschbarkeit von Moderatoren beliebiger Natur implicite schon enthalten ist. Die Ableitung der italienischen Autoren verdient auch noch aus anderen Gründen einer Kritik unterzogen zu werden. Für diese ist nicht der Gesichtspunkt maßgebend, daß wir etwa mit unseren Formeln den realen Verhältnissen näher zu kommen glauben. Das ist deswegen ausgeschlossen, weil die numerisch sehr geringen Differenzen weitaus überwogen werden, von einem anderen Fehler, der beiden Ableitungen gemeinsam ist, und der in der Annahme liegt, daß die Dissoziation von Salzen schwacher Säuren mit starken Basen und umgekehrt vollständig sei. Auf diesen Punkt ist schon genug von Henderson, Michaelis und d'Agostino und Quagliariello selbst hingewiesen worden. Die Ableitung von Agostino und Quagliariello erscheint uns vielmehr aus theoretischen Gründen unbefriedigend. Zunächst ist es mathematisch nicht einwandfrei, eine Funktion, wie die Abhängigkeit des p von der zugesetzten Säuremenge, die doch ihrer Natur nach sicher stetig ist, durch eine Gruppe von Formeln darzusellen, die bei stetig wachsendem Argument durch unstetige Veränderungen in den Werten der Konstanten ineinander übergehen. Das wäre vom naturwissenschaftlichen Standpunkt kein Schaden, wenn nicht eine weitere Konsequenz zu einem weiteren Fehler führte. Gerade in dem Punkte, wo man von einer Konstanten sprunghaft zur anderen übergehen muß, ist die Abweichung der d'Agostinoschen Formel von den wahren Verhältnissen am größten. So kommt es, daß die Autoren das Minimum der Moderationswirkung nicht im isoelektrischen Punkte sondern irrtümlich in dem „stöchiometrischen" Punkte finden, wie es bei einstufigen Elektrolyten (annähernd) gefunden wird. Uns lag nun daran, gerade die eigentümliche Eigenschaft des isoelektrischen Punktes zu betonen, daß in ihm beim Maximum des Dissoziationsrestes (Michaelis) je nach dem Wert von $k_b \cdot k_s$ ein Maximum oder Minimum der Pufferwirkung existiert. Die Behauptung von d'Agostino und

Quagliariello, daß die Minimumeigenschaft demjenigen Punkte zukomme, in dem die ganze Ampholytmenge in freiem Zustande vorhanden sei, besteht nur insofern zu recht, als eine (nicht zu stark verdünnte) Ampholytlösung in diesem Zustande tatsächlich nahezu isoelektrische Reaktion aufweist.

Es sind bisher nur Fälle betrachtet worden, in denen die Moderation in einer Lösung durch eine einzige Substanz bedingt war. Wir haben noch zu untersuchen, wie sich die Verhältnisse gestalten, falls in einer Lösung mehrere als Moderatoren wirksame Substanzen vorhanden sind. Die Rechnung zeigt, daß in dem Falle, daß alle vorhandenen Moderatoren entweder Säuren oder Basen sind, die Verhältnisse sehr leicht übersehbar werden, indem die Wirkungen der einzelnen Stoffe auf die Reaktionsregulierung sich einfach addieren. Der Ausdruck für P stellt sich dar als die Summe der einzelnen P der vorhandenen Moderatoren. Die Größe P wird daher je nach der Größe der vorkommenden Dissoziationskonstanten entweder mehrere Maxima und dazwischen entsprechend relative Minima besitzen, oder die verschiedenen Singularitäten werden ineinander übergehen, ganz wie wir es bei den mehrstufig dissoziierten Elektrolyten gesehen haben. Doch sind, worauf wir im Gegensatz zu d'Agostino und Quagliariello nochmals aufmerksam machen möchten, die erhaltenen Gleichungen nicht identisch mit den für einen mehrstufigen Elektrolyten gültigen. Sie liefern nur in praxi ziemlich genau übereinstimmende Resultate. Es fehlt aber in den zuletzt betrachteten Fällen die vollkommene Symmetrie der Kurven, welche die mehrstufigen Elektrolyte besitzen, und die daraus hervorgeht, daß bei diesen jede einzelne Gruppe in derselben Konzentration vorhanden ist, während in einem Gemische verschiedener Elektrolyte diese natürlich nicht alle gleiche Konzentration besitzen werden.

Wesentlich größere Schwierigkeiten für die Theorie bietet der Fall, daß die in einer Lösung vorhandenen Moderatoren teils Säuren, teils Basen sind. In diesem Falle ist die Möglichkeit gegeben, daß sich aus einer schwach dissoziierten Säure und einer ebensolchen Base ein Salz bildet. Während wir nun von jeder der einzelnen Komponenten wissen, daß ihre Dissoziation dem Massenwirkungsgesetz gehorcht, können wir von der Dissoziation des Salzes nicht das gleiche behaupten.

Es fehlt also zur Berechnung der Ionengleichgewichte eine Gleichung und das Problem bleibt unlösbar. Nur soviel läßt sich von vornherein sagen: Setzt man zu dem System so viel starker Säure wie den anwesenden schwachen Basen äquivalent ist, so werden diese so gut wie völlig in ihre (stark dissoziierten) Salze übergeführt und so als Moderatoren unwirksam gemacht, so daß nun die Wirkung der schwachen Säuren allein zur Geltung kommt. Dasselbe gilt auch umgekehrt für die schwachen Basen. Daraus folgt, daß für die extremen Reaktionen die Moderation wiederum additiven Charakter annehmen wird, während über das mittlere Reaktionsgebiet — und dieses interessiert uns im allgemeinen gerade am meisten — nichts ausgesagt werden kann.

Um die erhaltenen Resultate noch besser zu veranschauschaulichen, wollen wir dieselben noch an der Hand einiger Kurven besprechen. Wir wollen dabei aber nicht die Größe P als Funktion der Wasserstoffionenkonzentration betrachten, sondern wir wollen an das anknüpfen, was zu Eingang dieser Ausführungen über die Größe $S - S_0$ gesagt worden ist. Wie erinnerlich, ist dies die Differenz zwischen derjenigen Säuremenge, die einer vorgelegten Lösung die bestimmte Reaktion p erteilt, und derjenigen Säuremenge, die dem gleichen Volumen reinen Wassers dieselbe Reaktion erteilen würde. Diese Größe $S - S_0$ soll im folgenden als Funktion des Logarithmus der Wasserstoffionenkonzentration betrachtet werden. Wir gelangen damit zu ähnlichen Kurven, wie sie von Sörensen und von d'Agostino und Quagliariello beschrieben worden sind, doch unterscheiden sich unsere Kurven von jenen auf Grund ihrer Definition nicht unwesentlich. Die wichtigste Eigenschaft unserer Kurven ist die, daß gemäß der Definition der Größe P als $\frac{d(S - S_0)}{dp}$ die Steilheit der Kurve gegen die Abszissenachse stets das Maß für die Moderation in dem betreffenden Punkte darstellt. Alle unsere Kurven verlaufen also nach beiden Seiten hin mehr und mehr parallel der Abszissenachse, d. h. asymptotisch entsprechend dem Verschwinden jeglicher Pufferwirkung bei extremen Reaktionen. Dem Maximum der Moderation entspricht ein Punkt größter Steilheit, ein Wendepunkt, und in dem Falle, daß mehrere Maxima existieren, wechselt

immer ein Wendepunkt größter Steilheit mit einem solchen kleinster Steilheit ab.

Nach den obigen Ausführungen entspricht jeder Lösung, die schwach dissoziierte Elektrolyte enthält, eine bestimmte Kurve. Diese kann je nach Zahl und Art der vorhandenen Moderatoren einen oder viele Wendepunkte besitzen, jedenfalls aber besitzt sie nach der alkalischen wie nach der sauren Seite hin je eine Asymptote, und der Abstand dieser Asymptoten gibt die Gesamtkonzentration aller als Moderatoren wirksamen Äquivalente an. Wir wollen diese Größe als „(gesamte) Moderationsbreite“ bezeichnen. Diese Größe gibt uns ein Maß dafür, bis zu welchem Säure- bzw. Laugenzusatz die moderatorische Wirkung sich erstreckt, wobei aber zu beachten ist, daß die Moderation innerhalb dieser Regulierungsbreite von sehr verschiedener Stärke sein kann. Diese Verhältnisse sollen an einigen Kurven erläutert werden.

Im einfachsten Falle, also etwa bei einer $^m/_{10}$-Essigsäure (Dissoziationskonstante $= 1{,}8 \cdot 10^{-5} = 10^{-4{,}75}$) (Fig. 1) bemerken wir bei $[H^{\cdot}] = 10^{-4{,}75}$ ein Maximum der Moderation, $S - S_0$ ist hier gleich $-0{,}5$, d. h. es sind (ziemlich genau) gleiche Mengen Essigsäure und Acetat zugegen. Die Moderationsstärke bleibt zu beiden Seiten des Maximums zunächst ziemlich konstant (die Kurve verläuft ziemlich geradlinig) und fällt dann schnell auf einen verschwindenden Wert (asymptotisch horizontaler Verlauf). Die gesamte Regulierungsbreite ist gleich $^1/_{10}$, entsprechend dem Gehalt der Lösung.

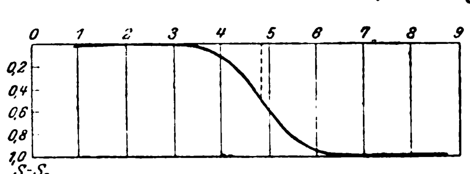


Fig. 1. $^m/_{10}$-Essigsäure.

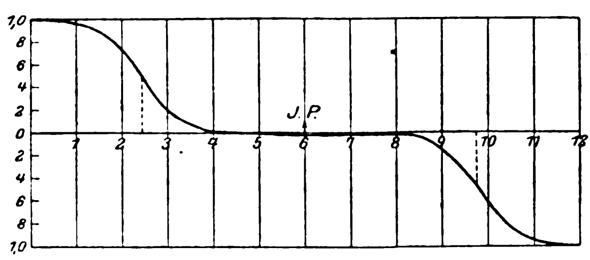


Fig. 2. Glykokoll.

In der Kurve für Glykokoll (Fig. 2) ist zunächst am isoelektrischen Punkte ($[H^{\cdot}] = 10^{-5,9}$) ein Minimum der Moderation deutlich ausgeprägt. Zu beiden Seiten bilden sich die oben besprochenen Maxima aus, die in den Punkten $[H^{\cdot}] = 10^{-2,4} = \frac{k_w}{k_b}$ und $10^{-9,7} = k_s$ gelegen sind. Noch weiter außen nimmt die Moderationswirkung wieder beiderseits auf Null ab. Dieses Verhalten entspricht der Tatsache, daß $k_b \cdot k_s$ für Glykokoll gleich $10^{-21,3}$, also gegen k_w sehr klein ist. Infolgedessen kommt es zur Ausbildung einer deutlichen isoelektrischen Zone, in der die Kurve fast horizontal verläuft. Die gesamte Regulierungsbreite der Lösung ist gleich $\frac{2m}{10}$, also doppelt so groß wie die der äquimolekularen Essigsäurelösung.

Die Kurve eines Ampholyten, für den $k_b k_s > \frac{1}{16} k_w$, nämlich gleich 10^{-12}, zeigt (Fig. 3) nur **ein** Maximum, und dieses liegt im isoelektrischen Punkte. Die Kurve unterscheidet sich von derjenigen der Essigsäure erstens durch die doppelt so große Regulierungsbreite, zweitens durch die größere Steilheit (stärkere moderierende Wirkung).

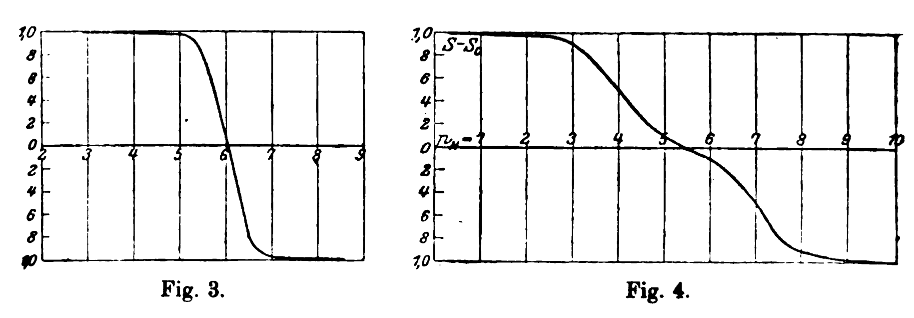


Fig. 3. Fig. 4.

Zwischen den beiden letztgenannten Kurven steht die in Fig. 4 wiedergegebene. Hier ist $k_s = 10^{-7}$ und $k_b = 10^{-10}$. Die isoelektrische Zone ist hier klein, die Steilheit (Moderationskraft) hat im isoelektrischen Punkte ein Minimum, ohne aber doch sehr klein zu sein.

Schließlich seien noch einige Kurven wiedergegeben, die mit verschiedenen Harnen (teils nach der colorimetrischen, teils nach der elektrometrischen Methode) erhalten wurden. Sie alle unterscheiden sich von den bisher betrachteten dadurch, daß die Lösung von vornherein eine gewisse Menge starker Säuren

und ebensolcher Basen enthält, die nicht in äquivalenten Verhältnissen stehen. Infolgedessen geht die Nullinie nicht durch einen bestimmt charakterisierten Punkt der Kurve, wie bei den Lösungen reiner Moderatoren. Der Punkt, in dem die Kurve die Abszissenachse trifft, zeigt die Wasserstoffionenkonzentration des nativen Urins an.

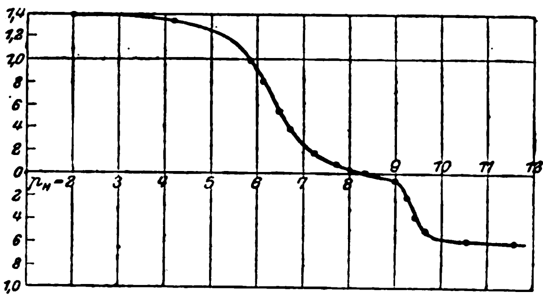


Fig. 5. Kaninchenharn.

Die Kurve eines Kaninchenharns (Fig. 5) zeigt zwei Maxima der Steilheit, das eine zwischen $p_H = 6$ und $p_H = 7$, entsprechend der Phosphat- und Carbonatwirkung (die zweite Dissoziationskonstante der Phosphorsäure sowie die erste der Kohlensäure liegt zwischen 10^{-6} und 10^{-7}), das zweite zwischen $p_H = 9$ und $p_H = 10$, entsprechend der Wirkung des Ammoniaks, dessen Dissoziationskonstante gleich $10^{-4,7}$ ist und dessen Optimum infolgedessen bei $[OH'] = 10^{-4,7}$, also bei $[H^{\cdot}] = 10^{-9,4}$ liegt. Die Abszissenachse, die, wie gesagt, den Säurezusatz Null darstellt, ist von der alkalischen Asymptote nicht so weit entfernt wie von der sauren: der Kaninchenurin ist ein basisches Produkt, seine Moderatoren sind schon zum größeren

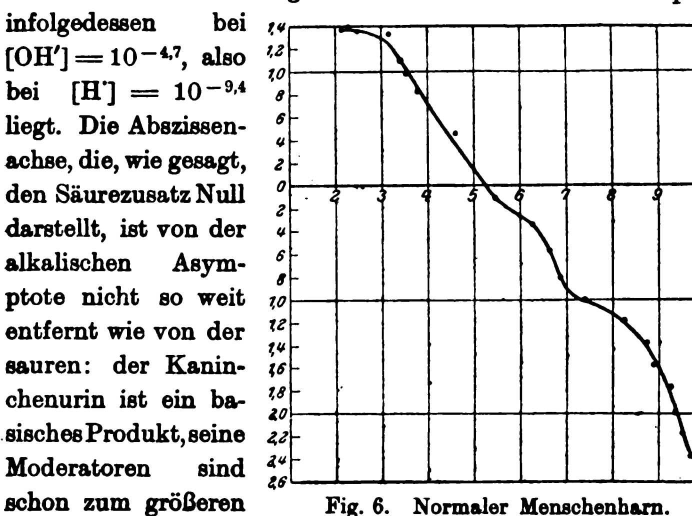


Fig. 6. Normaler Menschenharn.

Teil von Basen in Anspruch genommen. Es ist aus der Mannigfaltigkeit der Kurvenformen ersichtlich, daß diese Eigenschaften nicht notwendig mit einer nativ alkalischen Reaktion verbunden zu sein braucht.

Beim normalen Menschenharn (Fig. 6) sieht man deutliche Moderation zwischen $p_H = 9$ und $p_H = 10$ und zwischen $p_H = 6{,}5$ und $p_H = 7$ wie vorher, eine weniger deutliche Wirkung zwischen 3 und 4 kommt hier hinzu. Diesmal ist die saure Asymptote der Abszissenachse näher, entsprechend dem sauren Charakter des menschlichen Harns. Interessant sind die Kurven von diabetischen Harnen. Beide Diabetiker hatten Natron bicarbonic. erhalten (Fig. 7 und 8). Auf der sauren Seite er-

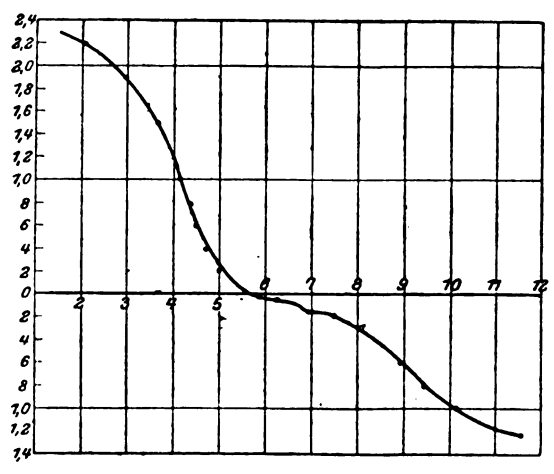


Fig. 7. Diabetes.

scheint eine große Erhebung der Kurve, die der Moderationswirkung der β-Oxybuttersäure entspricht. Das Maximum liegt bei $[H^{\cdot}] = 10^{-4,4}$, wie ja die Dissoziationskonstante der Oxybuttersäure gleich $10^{-4,7}$ ist. Deutlich ist auch die Ammoniakausscheidung, während die übrigen Harnbestandteile wohl infolge der großen Verdünnung nicht hervortreten; nur in Fig. 7 ist eine kleine Phosphat- bzw. Carbonatzacke erkennbar. Der Zucker, der, wie erwähnt, auch als ganz schwache Säure fungiert, würde in dieser Kurve eine Zacke bedingen, die weit rechts von dem abgebildeten Gebiete liegen würde. Daß auch solch schwache Säuren noch in einer derartigen Kurve zum Ausdruck kommen können, ist

durch die Messungen von **Michaelis** bewiesen. Bemerkenswert ist bei der Kurve der alkalische Charakter der Asymptotenlage unter dem Einflusse des Natrons, trotzdem der Urin an sich ziemlich stark sauer reagiert ($p_H = 5{,}74$).

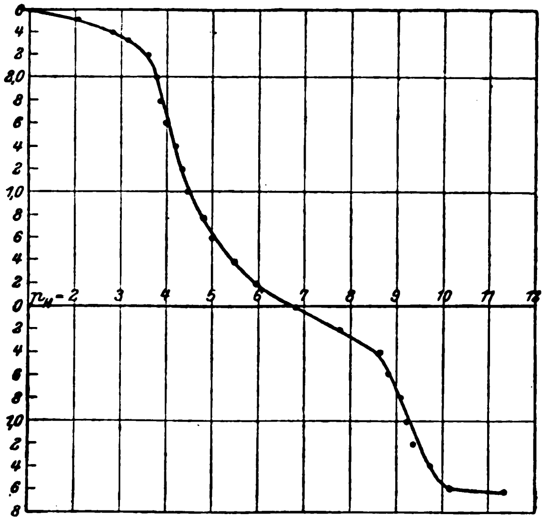


Fig. 8. Diabetes.

In Kurve 9, die von einem nephritischen Harn stammt, fällt neben der Geringfügigkeit der Phosphatwirkung noch eine große Steilheit zwischen 4 und 5 auf, die nach dem Gesagten entweder von einer Base mit der Dissoziationskonstante $10^{-9,5}$ oder von einer Säure mit der Dissoziationskonstante $10^{-4,5}$ abhängen muß, wenn sie überhaupt einheitlicher Natur ist. Es wird festzustellen sein, ob es sich hier um einen konstanten oder um einen zufälligen Befund handelt. In Kurve 10 (Fieber bei Pleuritis) ist besonders die Wirkung des Phosphates deutlich, was wohl



Fig. 9. Nephritis.

mit der im Fieber gesteigerten Phosphatausscheidung in Zusammenhang steht. Aus allem ist aber ersichtlich, daß für die Reaktionsverhältnisse des normalen Urins ganz überwiegend die anorganischen Bestandteile in Betracht kommen dürften.

Zum Schluß möchten wir noch auf folgendes hinweisen: Es hat sich gezeigt, daß, abgesehen von gewissen spezifischen Sekreten, in den Körperflüssigkeiten ungefähr neutrale Reaktion herrscht, d. h. daß immer Mechanismen tätig sind, die ein Überwiegen der Wasserstoff- oder Hydroxylionen verhindern. Dies wird einerseits erreicht durch die spezifischen Sekrete, besonders die Ausatmung der Kohlensäure in der Lunge, andererseits durch in den Körperflüssigkeiten vorhandene Stoffe, die als Moderatoren (Puffer) wirken. Es ergibt sich also gegenüber der Konstanz der Wasserstoffionenkonzentration als variabel die Menge jener Stoffe. Die Gesamtmenge der Moderatoren stellt das dar, was man früher als Säure- und Basenkapazität bestimmt hat, und die alten Titrationsmethoden liefern im wesentlichen nur Anhaltspunkte über diese Menge von Moderatoren. In diesem Sinne bekommen alle jene älteren Bestimmungen wieder ihren besonderen, und zwar ganz bestimmten Wert, nur muß man sich darübar klar sein, daß durch dieselben nicht ein Zustand (Statik), sondern eine Fähigkeit (Potential, Moderations- oder Regulierungsbreite) der Flüssigkeiten festgestellt werden kann.

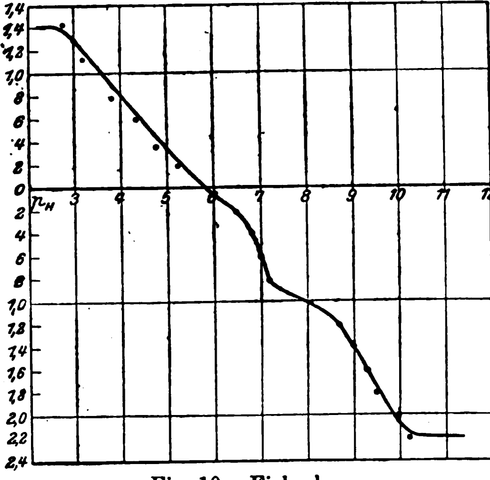


Fig. 10. Fieberharn.

In der Tat bedeuten die Alkalescenzverschiebungen, wie sie z. B. Magnus-Levy bei der diabetischen Acidosis beobachtet hat, daß die Anzahl der Moderatoren eine Abnahme erfahren hat, ohne daß darum die Zahl der Wasserstoffionen

merklich in einem bestimmten Sinne verschoben zu sein braucht. Nach der oben gegebenen Theorie ist es ersichtlich, daß die übliche Art der Titration keine genaue Bestimmung der Regulierungsbreite darstellt, jedoch steht die durch Titration gegen zwei weit auseinander liegende Indicatoren erhaltene Zahl zu der Gesamtmenge der Moderatoren in einer engen Beziehung. Und gerade diese Größe ist ja für klinische und experimentelle Fragen von grundlegender Bedeutung.

Zweiter Teil.

I. Sind in einer Lösung nur Elektrolyten vorhanden, deren Dissoziation als total angesehen werden kann, so stehen deren Ionen in keinerlei Gleichgewicht miteinander. Das einzige Ionengleichgewicht, das in der Lösung existiert, ist also dasjenige zwischen den Ionen des Wassers:

$$[H^{\cdot}] . [OH'] = k_w .$$

Es seien nun beliebige Lösungen mit nur total dissoziierten Elektrolyten vorgelegt, die die Wasserstoffionenkonzentrationen $x_1, x_2, \ldots x_n$ besitzen, und es sollen von diesen Lösungen die bezüglichen Volumina $v_1, v_2, \ldots v_n$ gemischt werden. Gesucht ist die Wasserstoffionenkonzentration des Gemisches x. Dann ist die Hydroxylionenkonzentration $\frac{k_w}{x}$. Wenn man den Vorgang der Mischung betrachtet, so ergibt sich aus dem Ausschluß aller anderen Ionenreaktionen, daß bei der Mischung nur entweder $H^{\cdot}$ mit OH' zur Vereinigung kommt oder H_2O in $H^{\cdot}$ und OH' zerfällt. Da hierbei stets ein $H^{\cdot}$ auf ein OH' entfällt, so muß die Differenz $[H^{\cdot}] - [OH']$ konstant bleiben. Dehnt man diese Betrachtung auf alle n Lösungen aus, so ergibt sich mit Berücksichtigung der Tatsache, daß die (relative) Anzahl der Ionen gleich ist dem Produkte aus Volumen und Konzentration, und unter Vernachlässigung einer etwaigen Volumveränderung bei der Mischung:

$$(v_1 + v_2 + \ldots + v_n)\left(x - \frac{k_w}{x}\right)$$
$$= v_1\left(x_1 - \frac{k_w}{x_1}\right) + v_2\left(x_2 - \frac{k_w}{x_2}\right) + \ldots + v_n\left(x_n - \frac{k_w}{x_n}\right),$$

woraus x als Lösung einer quadratischen Gleichung folgt.

Durch die Substitution $x = \frac{k_w}{y}$ läßt sich dasselbe auf die Hydroxylionen übertragen.

Die Ionenkonzentrationen sind also nur dann additiv, wenn sie gegenüber k_w sehr groß sind.

Dagegen sind die Größen $x - \frac{k_w}{x}$ bzw. $y - \frac{k_w}{y}$ streng additiv. Sie stellen, wie unter II. gezeigt wird, die Menge der frei vorhandenen, total dissoziierten Säure oder Base dar.

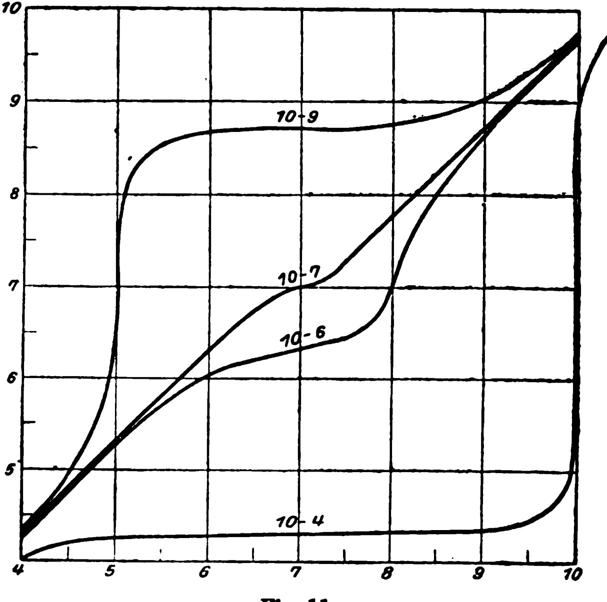


Fig. 11.

In beistehendem Diagramm (Fig. 11) ist eine Anzahl Kurven dargestellt, die sich ergeben, wenn man für ein Gemisch gleicher Volumina zweier Lösungen die [H˙] der einen Lösung konstant hält, die der anderen als Abszisse und die des Gemisches als Ordinate in logarithmischer Skala einträgt. Die konstant gehaltene Wasserstoffionenkonzentration ist jeder Kurve beigeschrieben. Die Kurven zeigen deutlich den steilen Verlauf in der Nähe des Neutralpunktes, wie er bei der „elektrometrischen Titration" tatsächlich experimentell gefunden wird. Der Vorgang bei dieser Titration ist zwar etwas anders als die unseren Kurven zugrunde gelegte Vermischung; aus der ge-

gebenen Hauptformel läßt sich aber leicht ablesen, daß die Kurven nur eine minimale Änderung erleiden, wenn man sie auf die Titration bezieht. In der folgenden Tabelle ist der Wasserstoffionenexponent aller Gemische angegeben, die aus gleichen Teilen von Lösungen sich theoretisch ergeben.

Tabelle

zur Ermittlung des p_H. für Mischungen, die aus gleichen Volumina Lösung von verschiedener Acidität bestehen.

	4	4,5	5	5,5	6	6,5	7	7,5	8	8,5	9	9,5	10
4,0	4,000	4,182	4,260	4,288	4,297	4,299	4,301	4,302	4,305	4,315	4,347	4,466	7,000
4,5		4,500	4,682	4,760	4,786	4,794	4,801	4,805	4,815	4,847	4,966	7,000	9,534
5,0			5,000	5,182	5,260	5,289	5,301	5,314	5,346	5,463	7,000	9,034	9,653
5,5				5,500	5,683	5,763	5,801	5,840	5,961	7,000	8,537	9,153	9,685
6,0					6,000	6,185	6,289	6,421	7,000	8,039	8,654	9,185	9,695
6,5						6,500	6,713	7,000	7,578	8,160	8,686	9,195	9,698
7,0							7,000	7,287	7,711	8,199	8,699	9,199	9,699
7,5								7,500	7,815	8,237	8,711	9,206	9,701
8,0									8,000	8,317	8,740	9,214	9,703
8,5										8,500	8,818	9,240	9,712
9,0											9,000	9,318	9,740
9,5												9,500	9,818
10,0													10,000

II. In einer Lösung sei vorhanden eine einbasische Säure mit der Dissoziationskonstante k_s in der Äquivalentkonzentration A, ferner total dissoziierte Säure in der Konzentration s, sowie Base in der Menge b. Bezeichnet x die Wasserstoff-, y die Hydroxylionenkonzentration, $[A']$ die Konzentration der Säureanionen, so ist

$x \cdot [A'] = k_s \cdot (A - [A'])$ Dissoziationsgleichung der Säure

$x \cdot y = k_w$ " des Wassers

$x + b = y + A' + s$ Gleichung der elektrischen Neutralität.

Mithin $$s - b = x - y - \frac{A k_s}{k_s + x}.$$

$s - b$ ist die Menge der frei vorhandenen starken Säureäquivalente, ist $s - b$ negativ, so sind starke Basenäquivalente im Überschuß. Wir setzen $s - b = S$, wobei nun S positiv oder negativ sein kann und je nachdem überschüssige Säure bzw. Base bedeutet. Im Falle der Abwesenheit schwacher Elektrolyte ergibt sich für $A = 0$ sofort $S_0 = x - y$, die oben erwähnte additive Größe.

Dann folgt $S - S_0 = -\frac{A\,k_s}{k_s + x}$. Das negative Vorzeichen auf der rechten Seite besagt nur, daß $S < S_0$, daß bei Anwesenheit der Säure A für dieselbe [H˙] mehr Base (weniger Säure) erforderlich ist als ohne A. Der Ausdruck der rechten Seite gibt dann den Betrag an, mit dem die schwache Säure gegenüber den starken Äquivalenten als Säure fungiert, in der Tat ist $\frac{A\,k_s}{k_s + x} = [A']$, gleich der Konzentration des dissoziierten Säureanteils. Um die Moderationswirkung unserer Lösung zu finden, haben wir $S - S_0$ nach p zu differenzieren, wobei

$$p = -\,{}^{10}\log x$$

ist. Es ist

$$P = \frac{d\,(S - S_0)}{d\,p} = \frac{d\,(S - S_0)}{d\,p} \cdot \frac{d\,x}{d\,p} = -\frac{A\,k_s}{(k_s + x)^2} \cdot x \cdot \ln 10.$$

Man sieht, daß sowohl für unendlich große wie für unendlich kleine x P verschwindet. Das Maximum von P liefert die Gleichung $\frac{d\,P}{d\,p} = 0$ als $x_{max} = k_s$, wie im ersten Teil ausführlich besprochen ist.

Denken wir uns aber einmal x konstant und k_s variabel, so ist auch $\frac{d\,P}{d\,k_s} = 0$ für $k_s = x$.

Es besitzt also nicht nur jede einzelne Säure das Maximum ihrer Moderation dort, wo die Wasserstoffionenkonzentration numerisch gleich ihrer Dissoziationskonstante ist, sondern es ist auch für eine bestimmte [H˙] diejenige Säure der stärkste Moderator, deren Dissoziationskonstante gleich der gegebenen Wasserstoffionenkonzentration ist. Da von dem letzteren Satz in der Praxis oft Gebrauch gemacht worden ist, so scheint es uns nicht unwichtig, darauf hinzuweisen, daß von den beiden Sätzen nicht der eine aus dem anderen hergeleitet werden kann. Wenn nämlich P von x und k_s abhängig gedacht wird, so daß etwa $P = f(x, k_s)$, so brauchen die beiden Maximumbedingungen $\frac{\partial f}{\partial x} = 0$ und $\frac{\partial f}{\partial k_s} = 0$ im allgemeinen durchaus nicht gleichzeitig erfüllt zu sein. Sie sind es aber im vorliegenden Falle, da die Formel für P nach x und k_s symmetrisch ist.

Die maximale Größe von P wird gleich $-\frac{A \ln 10}{4}$, ein Resultat, dessen Bedeutung im ersten Teil genügend gewürdigt ist. Das negative Vorzeichen besagt nur, daß bei Zusatz von Säure die Größe p kleiner wird. Das Auftreten der Konstante $\ln 10$ rührt von der Wahl des logarithmischen Maßsystems her.

Genau wie für die einbasische Säure, so läßt sich auch für die einsäurige Base die Gleichung herleiten

$$B - B_0 = -\frac{B k_b}{k_b + y}$$

und

$$P = -\frac{B k_b y}{(k_b + y)^2} \ln 10,$$

deren Interpretation dieselbe ist wie oben.

III. Für die Lösung eines amphoteren Elektrolyten mit den Dissoziationskonstanten k_b und k_s hat man die Gleichungen

$$\begin{aligned} x \cdot [A'] &= k_s (A - [A'] - [A^{\cdot}]) \\ y \cdot [A^{\cdot}] &= k_b (A - [A'] - [A^{\cdot}]) \\ x \cdot y &= k_w \\ x + [A^{\cdot}] + b &= y + [A'] + s \\ \hline s - b &= x - y + \frac{A (k_b x - k_s y)}{k_b x + k_s y + k_w} \\ S - S_0 &= \frac{A (k_b x - k_s y)}{k_b x + k_s y + k_w}. \end{aligned}$$

Dies ist die Gleichung, welches das Wesentliche der Moderation eines amphoteren Elektrolyten darstellt. Bevor wir an die Ausrechnung von P gehen, sollen noch einige Eigenschaften von $S - S_0$ nachgewiesen werden. Für wachsende x oder y nähert sich $S - S_0$ dem Werte A, wie vorauszusehen, und zwar für große x dem Werte $+A$, für große y dem Werte $-A$, indem der Ampholyt im ersten Falle mehr und mehr als Base, im zweiten Falle als Säure wirkt.

Es sei nun für zwei Paare von Dissoziationskonstanten $k_b \cdot k_s = k_b' \cdot k_s'$. Dann kann man setzen $k_b = k_b' \cdot \varepsilon$, $k_s = k_s' \cdot \frac{1}{\varepsilon}$.

Die obige Gleichung für $S - S_0$ geht dann über in

$$S - S_0 = \frac{k_b' \cdot \varepsilon \cdot x - k_s' \cdot \frac{1}{\varepsilon} \cdot y}{k_b' \cdot \varepsilon \cdot x + k_s' \cdot \frac{1}{\varepsilon} \cdot y + k_w}.$$

Die Gleichung geht also in sich selbst über, wenn man sich nur alle x mit dem Faktor ε und entsprechend alle y mit dem Faktor $\frac{1}{\varepsilon}$ behaftet denkt. (Die letzte Bedingung ist wegen $x = \frac{k_w}{y}$ selbstverständlich.) Damit geht aber die Größe $p = -\log x$ in den Wert $p - \log \varepsilon$ über und wir haben den Satz: Alle Kurven, die $S - S_0$ für einen amphoteren Elektrolyten als Funktion der Wasserstoffionenexponenten darstellen, sind kongruent, wenn das Produkt $k_b \cdot k_s$ einen konstanten Wert hat. Die Kurven erscheinen nur in Richtung der Abszissenachse gegeneinander verschoben.

Aus der Gleichung der elektrischen Neutralität, die oben in der Form

$$x + [A^{\cdot}] + b = y + [A'] + s$$

gegeben wurde, folgt ohne weitere Rechnung

$$[A^{\cdot}] - [A'] = S - S_0$$

und für den isoelektrischen Punkt, in dem $[A^{\cdot}] = [A']$ wird,

$$S - S_0 = 0$$
$$S = S_0 .$$

Um einem Ampholyten isoelektrische Reaktion zu erteilen, ist ebensoviel Säure nötig, wie nötig sein würde, um reinem Wasser dieselbe Reaktion zu erteilen. Aus diesem bereits von Sörensen aufgestellten Satze erhellt schon die besondere Stellung, die dem isoelektrischen Punkte in den Fragen der Reaktionsregulierung zukommt. Einstweilen berechnen wir aus $S - S_0 = 0$ für den isoelektrischen Punkt

$$k_b x = k_s y$$

und weil $xy = k_w$, so ist am isoelektrischen Punkt

$$x = \sqrt{\frac{k_w k_s}{k_b}}; \quad y = \sqrt{\frac{k_w k_b}{k_s}}.$$

Im folgenden werden wir denselben gewöhnlich durch $k_b x - k_s y = 0$ charakterisieren.

Um das Maß der Moderation P zu erhalten, haben wir $S - S_0$ nach p zu differenzieren. Da es sich im folgenden nur um Maximum- und Minimumbetrachtungen handelt, so kann von dem konstanten Faktor $\ln 10$ abgesehen werden.

Setzt man

$$k_b x - k_s y = z\,, \quad k_b x + k_s y + k_w = n\,,$$

so ist

$$\frac{dz}{dp} = k_b x + k_s y = n - k_w\,,$$

$$\frac{dn}{dp} = z\,.$$

Ferner ist $S - S_0 = \frac{z}{n} \cdot A$ und $z = 0$ liefert den isoelektrischen Punkt.

Es ergibt sich

$$P = \frac{n(n - k_w) - z^2}{n^2} A = \frac{A k_w (4 k_b k_s + k_b x + k_s y)}{(k_b x + k_s + k_w)^2}\,.$$

Um die Maximumbedingung $\frac{dP}{dp} = 0$ zu untersuchen, setzen wir $P = A k_w \cdot \frac{u}{n^2}$ und beachten, daß $\frac{du}{dp} = \frac{dn}{dp}$ ist, so daß

$$\frac{dP}{dp} = A k_w \cdot \frac{n^2 \cdot \frac{du}{dp} - 2 n u \cdot \frac{dn}{dp}}{n^4} = A k_w \cdot \frac{n - 2u}{n^3} \cdot \frac{dn}{dp}$$

und da $\quad \frac{dn}{dp} = k_b x - k_s y\,,$

$$\frac{dP}{dp} = \frac{k_w - 8 k_b k_s - k_b x - k_s y}{(k_b x + k_s y + k_w)^3} \cdot (k_b x - k_s y)\,.$$

Die Maximum-Minimumbedingung lautet also entweder

$$k_b x - k_s y = 0\,,$$

das ist die Gleichung des isoelektrischen Punktes, oder

$k_b x + k_s y = k_w - 8 k_b k_s$. Diese Gleichung liefert mit der anderen $\quad x \cdot y = k_w$

$$x_m = \frac{k_w}{2 k_b}\left[\left(1 - \frac{8 k_b k_s}{k_w}\right) \pm \sqrt{\left(1 - \frac{8 k_b k_s}{k_w}\right)^2 - \frac{4 k_b k_s}{k_w}}\right],$$

$$y_m = \frac{k_w}{2 k_s}\left[\left(1 - \frac{8 k_b k_s}{k_w}\right) \mp \sqrt{\left(1 - \frac{8 k_b k_s}{k_w}\right)^2 - \frac{4 k_b k_s}{k_w}}\right].$$

Es fragt sich, wann diese Lösungen reell und positiv sind. Aus der Form der Wurzel geht hervor, was auch die Gleichung $x y = k_w$ lehrt, daß x immer gleichzeitig mit y reell und positiv ist. Die Zahl der Lösungen reduziert sich also auf zwei.

Die Entscheidung über die Existenz reeller Lösungen liegt in der Ungleichung

$$\left(1 - \frac{8\,k_b k_s}{k_w}\right)^2 - \frac{4\,k_b k_s}{k_w} > 0,$$

die für $\frac{k_b k_s}{k_w}$ quadratisch ist und die Lösungen liefert

$$\left[\frac{k_b k_s}{k_w}\right]_1 > \frac{1}{4}$$

$$\left[\frac{k_b k_s}{k_w}\right]_2 < \frac{1}{16}.$$

Die erste Lösung scheidet aus, da schon für $\frac{k_b k_s}{k_w} > \frac{1}{8}$ die Werte von x und y negativ werden. Die zweite Lösung besagt: Ist für einen Ampholyten das Produkt $k_b k_s < \frac{k_w}{16}$, so besitzt die Kurve der $S - S_0$ außer im isoelektrischen Punkt noch zwei weitere Singularitäten, von denen leicht gezeigt werden kann, daß sie zum isoelektrischen Punkte symmetrisch liegen.

Ist, wie es tatsächlich oft der Fall ist, $k_b k_s$ sehr klein gegen k_w so verschwindet $8\frac{k_b k_s}{k_w}$ gegen 1 und es ergibt sich mit großer Näherung

$$x_1 = \frac{k_w}{k_b};\quad x_2 = k_s;$$

$$y_1 = k_b;\quad y_2 = \frac{k_w}{k_s}.$$

Die Lösung 1 entspricht einer Base von der Dissoziationskonstanten k_b, Lösung 2 einer Säure von der Dissoziationskonstanten k_s. Der Ampholyt verhält sich also wie zwei sich nicht beeinflussende einfache Elektrolyten. Daß diese gerade entgegengesetzten Charakter haben, ist nicht nötig, es ließe sich ja beispielsweise auch die Lösung 1 einer Säure zuschreiben, die dann die Dissoziationskonstante $\frac{k_w}{k_b}$ besitzen würde.

Die nochmalige Differenzierung von $\frac{dP}{dp}$ lehrt, daß im Falle der Existenz der beiden zuletzt behandelten Lösungen diese

Maxima darstellen, während im isoelektrischen Punkt die Größe P ein Minimum besitzt; wenn aber die Lösungen der quadratischen Gleichung nicht existieren, so hat P im isoelektrischen Punkte ein Maximum.

Die Größe dieser Maxima und Minima ergibt sich am einfachsten, indem man in den Ausdruck für P die den Bedingungsgleichungen entsprechenden Werte von n und z einführt: also im isoelektrischen Punkte $z = 0$, für die beiden anderen Maxima $k_b x + k_s y = k_w - 8 k_b k_s$.

Im ersten Falle wird dann

$$P = A\left(1 - \frac{1}{1 + 2\sqrt{\frac{k_b k_s}{k_w}}}\right),$$

für die beiden anderen Maxima

$$P = \frac{A}{4\left(1 - \frac{4 k_b k_s}{k_w}\right)}.$$

Dieser Wert ist im allgemeinen größer als $\frac{A}{4}$, kleiner als $\frac{A}{3}$, geht für verschwindendes $\frac{k_b k_s}{k_w}$ wieder in den Wert $\frac{A}{4}$ der einfachen Säuren und Basen über, während der Wert für den isoelektrischen Punkt, falls er überhaupt einem Maximum entspricht, größer als $\frac{A}{3}$ ist. Wie man sieht, ist das Produkt $k_b k_s$ oder genauer sein Verhältnis zu k_w das Entscheidende bei der Moderationswirkung eines amphoteren Elektrolyten.

IV. Für eine zweibasische Säure sind die Dissoziationsgleichungen

$$x \cdot [A'] = k_s \cdot [A],$$
$$x \cdot [A''] = k_s' \cdot [A'],$$

ferner

$$[A'] + [A''] + [A] = A,$$
$$x + b = y + s + [A'] + 2[A''],$$

so daß

$$S - S_0 = \frac{1 + \frac{2 k_s'}{x}}{1 + \frac{k_s'}{x} + \frac{x}{k_s}} A.$$

Ersetzt man nun rein formal k_s durch $\frac{k_w}{k_b}$ und erweitert den Bruch mit k_w, so folgt

$$S - S_0 = \frac{k_w + 2\,k_s'\,y}{k_w + k_s'\,y + k_b x} A$$

und weiter

$$S - S_0 - A = \frac{k_s' y - k_b x}{k_w + k_s'\,y + k_b x} A.$$

Die Gleichung einer zweibasischen Säure ist also bis auf die additive Konstante A identisch mit derjenigen eines amphoteren Elektrolyten. Die oben gegebenen Sätze sind leicht dementsprechend umzuformen. Das Verhältnis $\frac{k_b k_s}{k_w}$, das oben eine große Rolle gespielt hat, geht jetzt über in

$$\frac{k_b k_s'}{k_w} = \frac{\frac{k_w}{k_s} \cdot k_s'}{k_w} = \frac{k_s'}{k_s};$$

d. h. der Charakter der Kurve hängt davon ab, ob $\frac{k_s'}{k_s}$ größer oder kleiner ist als $\frac{k_s}{16}$. Da im allgemeinen $k_s' < \frac{k_s}{16}$, so haben wir es meistens mit zweistufigen Kurven zu tun wie beim Glykokoll, wo $\frac{k_b k_s}{k_w} < \frac{1}{16}$. Es sind also bezüglich der Moderation nicht nur Säuren mit Basen, sondern allgemein saure Äquivalente mit basischen beliebig vertauschbar.

V. In einer Lösung seien mehrere Säuren $A_1, A_2, \ldots A_n$ vorhanden. Dann sind die Gleichgewichtsbedingungen

$$\begin{aligned} x \cdot [A_1'] &= k_1 (A_1 - [A_1']) \\ x \cdot [A_2] &= k_2 (A_2 - [A_2']) \\ &\vdots \\ x \cdot [A_n] &= k_n (A_n - [A_n']), \end{aligned}$$

ferner

$$x + b = y + s + [A_1'] + [A_2'] + \ldots + [A_n'],$$

so daß

$$S - S_0 = -\left(\frac{A_1 k_1}{x + k_1} + \frac{A_2 k_2}{x + k_2} + \ldots + \frac{A_n k_w}{x + k_n}\right).$$

Aus dieser Gleichung ist die additive Wirkung der Moderatoren evident. Aber die obigen Voraussetzungen sind nur dann erfüllt, wenn alle Moderatoren entweder Basen oder alle Säuren sind. Andernfalls bilden sich zwischen den wirksamen Elektrolyten Salze, und deren Ionengleichgewichte unterliegen anderen Gesetzen als den hier zugrunde gelegten Prinzipien der chemischen Massenwirkung entspricht. Umgekehrt liefert das Studium derartiger Lösungen einen Aufschluß über die Ionisierung solcher Salze.

Experimentelle Untersuchungen über die Hämoconien.

Von

Oskar Weltmann (Wien).

(Aus dem chemischen Laboratorium der Ludwig-Spiegler-Stiftung und aus der III. medizinischen Klinik.)

(Eingegangen am 15. Juni 1914.)

Der ganz augenfällige Konnex zwischen Fettaufnahme und Hämoconienbildung mußte wohl die Fettnatur der Hämoconien wahrscheinlich machen, die auch von den meisten Autoren angenommen wurde, ohne daß ein sicherer Beweis dafür erbracht worden wäre.

So fast Neumann[1]) die Hämoconien als Fettkörper auf, da sie angeblich nach Ätherausschüttelung verschwinden. Neißer und Bräuning[2]) sprechen sich gleichfalls dahin aus und führen folgende Gründe an: Unlöslichkeit in Wasser, Ätherlöslichkeit, spezifisch leichteres Gewicht als Wasser, Färbbarkeit mit Fettfarbstoffen und Fettfleckbildung auf dem Papier. Sie nehmen die Identität des Hämoconienfettes mit dem Nah rungsfett als wahrscheinlich an. Wiener[3]) dagegen wendet sich gegen die Auffassung, daß die Hämoconien ausschließlich aus Fettkörpern bestehen, und macht darauf aufmerksam, daß sich die Hämoconien nicht immer und nicht vollständig mit Äther ausschütteln lassen. Lemierre, Brulé und Weill[4]) wiesen einen strengen Parallelismus zwischen Hämoconien- und Fettgehalt des Blutes während der Verdauung nach.

Fast alle Autoren, die sich mit der Lipämie beschäftigt haben, geben an, daß die Blutfetttröpfchen keine Osmiumbräunung annehmen. Nur Gumbrecht[5]) hat in seinem Falle, der eine schwere Lipämie bei einem Alkoholiker betraf, das Serum mit Osmium färben können. Es wurde ferner von Neißer und Bräuning[2]) der Versuch unternommen, durch

---

[1]) Neumann, Wiener klin. Wochenschr. **1907**, Nr. 28; **1908**, 989.

[2]) Neißer und Bräuning, Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Ther. **4**, 3.

[3]) Wiener, Wiener klin. Wochenschr. **1908**, Nr. 29.

[4]) Lemierre, Brulé und Weill, Arch. des maladies de l'appareil digestiv et de la nutrit. 7, 661, 1913.

[5]) Gumbrecht, Deutsche med. Wochenschr. **20**, 756, 1894.

Verfütterung von sudangefärbtem Fett die Hämoconien vital zu färben. Dabei beobachteten diese Autoren Rosafärbung des Chylus und Serums. Beim Stehenlassen entfärbte sich das Serum teilweise unter Bildung einer rosafarbenen Rahmschicht. Die Hämoconien erschienen „schwach aber deutlich gefärbt". Dagegen blieb das Serum nach Fütterung mit mit Osmium geschwärztem Fette unverändert. Diese Erscheinung ist zwanglos in dem Sinne zu deuten, daß die Osmiumsäure durch die Fettsäuren eine Reduktion zu metallischem Osmium erfährt und als solches von der Darmschleimhaut nicht resorbiert werden kann, da es ja in keinem weiteren Zusammenhange mit dem Fette steht.

Wir haben uns daher zunächst dem tinktoriellen Verhalten der Hämotoconien zugewendet. Wir fanden: mit Osmium keine Bräunung, mit Sudan und Scharlachrot in methylalkoholischer Lösung keine distinkte Färbung, ebenso versagte das Nilblausulfat. Die Hämoconien sind im Polarisationsmikroskop nicht sichtbar[1]). Wir konnten uns ferner davon überzeugen, daß nach Verfütterung von sudangefärbtem Fett wohl eine Rosafärbung des Serums auftritt, daß diese aber fast ausschließlich auf Hämoglobingehalt zurückzuführen ist; die Rahmschicht zeigte kaum eine Andeutung von Rosafärbung. Mikroskopisch konnten wir keine Rosatönung der Hämoconien beobachten. Wir waren also zu ganz negativen Resultaten gelangt, die uns zunächst Zweifel an dem Fettcharakter der Hämoconien erwecken mußten, obwohl ja die Möglichkeit vorlag, daß es sich um Fett in maskiertem Zustande handle. Wir wissen aus den Untersuchungen von Rossi[2]), daß Fett bei Gegenwart von Eiweißkörpern sich dem Nachweis durch Osmium entziehen kann. Ebenso konnte angenommen werden, daß die Färbbarkeit der Fetttröpfchen durch andere Fettfarbstoffe bei Gegenwart von Eiweiß behindert werde.

Wir versuchten deshalb auf anderem Wege Aufschluß über die Natur der Hämoconien zu erlangen. Es war zunächst geboten, den Einfluß von Fettsolventien auf lipämisches Serum zu untersuchen. Wir gelangten dabei zu dem Ergebnis, daß es weder mit Chloroform, noch mit Schwefel- oder Petroläther

[1]) Es wurde das Dunkelfeld von C. Reichert verwendet.

[2]) Rossi, Arch. d. Fisiol. 4, 429, 1909.

gelingt, eine vollkommene Klärung des Serums und ein Verschwinden der Hämoconien zu erzielen. Bei milchiger Beschaffenheit des Serums, wie wir sie bei Mästungslipämie antreffen können, war wohl nach der Ausschüttelung mit Äther das Serum bedeutend klarer geworden. Es bildete sich aber eine trübe Zwischenschicht aus, die ultramikroskopisch untersucht, aus Hämoconien bestand, und die, abpipettiert, sich nicht in Äther löste. Bei der physiologischen Verdauungslipämie, die nur durch mäßige Trübung des Serums charakterisiert ist, beobachteten wir entweder überhaupt keine oder nur geringe Klärung des Serums unter Bildung einer Zwischenschicht. Nach Zentrifugieren des mit Äther geschüttelten Serums war bisweilen zwischen Äther und Serum ein scharf begrenzter, trüber Ring sichtbar, der, im Dunkelfeld betrachtet, einer konzentrierteren Hämoconien-Emulsion entsprach, während die Serumschicht eine leichte Abnahme von Ultrateilchen erkennen ließ.

Da uns also die Ätherausschüttelung nicht zum Ziele führte, nahmen wir zu einem in der Serologie bekannten Kunstgriff unsere Zuflucht. Es gelingt, lipämisches Serum mittels Filtration durch eine Kieselgurkerze zu klären. Voraussetzung ist entsprechende Auswahl der Filter, die sehr dicht sein müssen, und Anwendung gelinder Saugwirkung bei der Filtration. Wir überzeugten uns davon, daß bei gelungener Filtration das Filtrat fast frei von ultramikroskrpischen Teilchen war, während im Filterrückstand eine ungeheuere Konzentration derselben nachweisbar war. Klares Serum hinterließ in der Reichel-Kerze keinen Rückstand, nach einmaligem Nachwaschen der Kerze mit physiologischer Kochsalzlösung gab das Filtrat (d. h. die Kochsalzlösung) nicht mehr die Ninhydrinreaktion. Der Filterrückstand von trübem Serum hatte die Konsistenz halbflüssigen Leimes, löste sich in Äther und Chloroform nicht auf und gab die üblichen Eiweißreaktionen. Beim Versuch, ihn vom löslichen Eiweiß durch wiederholtes Nachwaschen mit physiologischer Kochsalzlösung zu befreien, wurde er allmählich ausgelaugt und verschwand schließlich. Noch nach 18 maliger Waschung gab die filtrierte Kochsalzlösung die Ninhydrinreaktion. Es wurde nunmehr das ursprünglich trübe Serum und dessen Filtrat auf Stickstoff und Fettgehalt untersucht. Dabei ergab sich im Kubikzentimeter eine Differenz von 1,54 mg N zugunsten

des trüben Serums. Der Fettgehalt, nach der von Rosenfeld verwendeten Methode bestimmt, betrug im unfiltrierten Serum 0,53 %, im filtrierten 0,168 %. Bei der Filtration waren also etwa $^2/_3$ des Fettgehaltes zurückgehalten worden.

Wir wendeten uns nunmehr der Untersuchung des Filterrückstandes zu. Dieser löste sich in Wasser, Kochsalzlösung und Serum unter dem Bilde einer dichten ultramikroskopischen Suspension auf. Beim Stehen rahmte der Rückstand auf, auch dieser Rahm löste sich in Äther nicht auf. Beim Verdunsten des Äthers blieb aber ein zarter Beschlag auf dem Uhrglase zurück. Zum Zwecke weiterer Untersuchungen wurde der Rückstand über konz. Schwefelsäure im Vakuum getrocknet und fein gepulvert. Eine Spur dieses gelben Pulvers, in Wasser gelöst, ergab im Dunkelfeld wieder das Bild hämoconienreichen Serums. Dagegen ließ sich das Pulver weder in Äther noch in Chloroform und Benzol auflösen. Wir hatten also bisher keinen Anhaltspunkt für die Natur der die Trübung des Serums bedingenden Substanz gewonnen und versuchten nunmehr, durch verschiedene chemische Eingriffe unter ultramikroskopischer Kontrolle die kolloidale Lösung der Substanz zu beeinflussen. Auf Zusatz von Schwefelsäure und Kalilauge konnten wir keine Veränderung im ultramikroskopischen Verhalten beobachten. Auch Salzlösungen wie Calciumchlorid ließen das Bild unverändert. Ebenso ließ ein Zusatz von Ammoniumoxalat, das nach den Angaben von Boggs und Morris[1]) lipämisches Serum klärt, die Suspension unbeeinflußt.

Wir versuchten es, durch vorsichtige Niederschlagsbildung ein Ausfällen der Hämoconien zu provozieren. Wir versetzten die wässerige Lösung der Substanz mit Natriumphosphat und Calciumchlorid, filtrierten — und fanden die Hämoconien unverändert wieder. Wir schüttelten die Hämoconienaufschwemmung mit einer ätherischen Cholesterinlösung, beobachteten anfangs eine Klärung unter Bildung einer trüben Zwischenschicht; nach Ausfallen des Cholesterins waren die Ultrateilchen wie vorher sichtbar. Bei Fällung des Eiweißes dagegen verschwanden die Hämoconien, die kolloidale Lösung wurde zerstört, und über dem Niederschlag war die Flüssigkeit klar. Wir erreichten dies

[1]) Zit. nach Fürth, Probleme der phys. Chemie.

sowohl mit Ammonsulfat als mit kolloidalem Eisen und Sublimat-Salzsäure. Hier waren also die Ultrateilchen entweder gefällt oder mitgerissen worden.

Wir versuchten nunmehr dem Problem von der Fettseite beizukommen. Wir schüttelten die wässerige Aufschwemmung unserer Substanz mit Chloroform. Nach Verjagen des Chloroforms blieb ein feiner Beschlag auf dem Glase. Die Hämoconienaufschwemmung erwies sich mikroskopisch als unverändert.

Negativ fiel auch der Versuch aus, durch eine Lösung von gallensauren Salzen die Hämoconien zu beeinflussen. Wir hielten uns dabei an eine Mitteilung von Kalaboukoff und Terroine[1]), die auf Zusatz einer Lösung von gallensauren Salzen zu einer Lecithinsuspension diese unter Verschwinden der ultramikroskopischen Teile klar werden sahen. Wir untersuchten sodann das Verhalten der Hämoconienaufschwemmung zur Osmiumsäure und verwendeten als Kontrolle: 1. eine ultramikroskopisch feine Emulsion von Olivenöl, die wir durch tropfenweises Einbringen der heißen alkoholischen Fettlösung in Wasser erhielten, 2. diese Emulsion mit Serum stark verdünnt, 3. die dritte Emulsion mit geringem Zusatz von Serum. Dabei erhielten wir folgendes Resultat:

Hämoconienaufschwemmung	Gelbfärbung,
Emulsion	Schwärzung,
Emulsion, mit Serum verdünnt	Gelbfärbung,
Emulsion dicht, mit Serum versetzt . .	Schwärzung,
Serum	Braunfärbung.

Wir konnten also die Angaben Rossis[2]) bestätigen, daß die Osmiumbräunung des Fettes durch die Gegenwart von Eiweißkörpern verhindert werden kann. Die Hämoconienaufschwemmung verhielt sich wie eine Fettemulsion im eiweißhaltigen Medium.

Wir versuchten nunmehr das Eiweiß durch Fermentwirkung abzubauen, um auf diese Weise an das Fett — solches mußte nach unserer Fettbestimmung im unfiltrierten und filtrierten Serum als vorhanden angenommen werden — heranzukommen.

---

[1]) Kalaboukoff und Terroine, Compt. rend. Soc. Biol. 66, 176, 1909.

[2]) Rossi, Arch. d. Fisiol. 4, 429, 1909.

Das Resultat war wie folgt:

Pepsin-Salzsäure-Verdauung: Nach 24 Stunden keine Veränderung, nach 40 Stunden zwischen groben Flocken reichlich bewegliche Ultrateilchen.

Trypsin-Verdauung (Zusatz von Natriumcarbonat): Nach 24 Stunden zeigen die Ultrateilchen viel lebhaftere Molekularbewegung, sonst unverändert; nach 48 Stunden noch reichlich (bewegliche) Ultrateilchen.

Papajotin(Merck)-Verdauung: Nach 24 Stunden neben Flocken reichlich Hämoconien; nach 48 Stunden Ultrateilchen spärlicher, nach 60 Stunden deutliche Verminderung derselben.

Wenn wir nach 60stündiger Einwirkung des Papajotins bei 37° die Aufschwemmung unserer Substanz mit Äther im Scheidetrichter auszogen, so erhielten wir einen beträchtlichen Ätherrückstand. In der wässerigen Aufschwemmung waren nach Filtrieren keine Ultrateilchen sichtbar. Der Ätherrückstand, mit Wasser unter leichtem Erwärmen verrieben, gab eine trübe Emulsion mit gröberen Teilchen. Nach Filtrieren derselben durch ein gehärtetes Filter waren wieder reichlich bewegliche Ultrateilchen sichtbar.

Um nun die Frage zu entscheiden, ob es sich um eine Bindung zwischen Eiweiß und Fett handle, wie Mansfeld eine solche bei dem maskierten Blutfett annimmt, oder ob etwa nur eine physikalische Erscheinung (Umhüllung) vorliegt, haben wir folgenden Versuch ausgeführt. Lipämisches Serum wurde durch eine Reichel-Kerze filtriert. Der dickflüssige Rückstand wurde mit Äther im Scheidetrichter geschüttelt, bis kein Beschlag mehr auf dem Uhrglase blieb. Nach dem Verjagen des Äthers blieben ölige Tropfen und stellenweise Krystalle auf der Krystallisierschale zurück.

Das ausgeätherte Filtrat wies spärliche Hämoconien auf, dagegen reichlich Flocken, aus koagulierten Tropfen bestehend. Nach scharfem Zentrifugieren sind zwei Schichten sichtbar. Eine klare gelbe Schicht und ein weißer Rahm. Die klare Schicht zeigt im Dunkelfeld keine Hämoconien, nur äußerst feine Ultrateilchen. Der Rahm erweist sich aus großen Tropfen und Hämoconien zusammengesetzt. Ein Tropfen des Rahmes, auf ein Uhrglas gebracht, löst sich in Wasser (unter Hämoconienbildung), dagegen bleibt er in Äther als Tropfen be-

stehen. Durch wiederholtes scharfes Zentrifugieren und Absaugen der klaren Flüssigkeitsschicht wurde der Rahm isoliert gewonnen. Er wird mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und im Scheidetrichter mit Äther ausgezogen. Nach wiederholtem Schütteln klärt sich die wässerige (Kochsalz-) Schicht fast vollkommen auf (im Ultramikroskop nur spärlich äußerst feine Ultrateilchen sichtbar), der Äther hinterläßt nach dem Verdunsten eine fettige Substanz; diese läßt sich mit Wasser oder Serum zum Teil wieder in eine ultramikroskopische Suspension bringen.

Die Untersuchung des 1. und 2. Ätherextraktes ergibt das Vorhandensein von Neutralfett in Form von Cholesterin- und Glycerinfettsäureestern.

Wir haben somit den Beweis erbracht, daß die Hämoconien tatsächlich aus Neutralfett bestehen, wie es bisher auch richtig vermutet wurde. Das refraktäre Verhalten der Hämoconien zur Osmiumfärbung ist durch die Anwesenheit des Eiweißes bedingt. Die mangelhafte Löslichkeit in Äther ist auf eine physikalische Anlagerung des Eiweißes an die feinst emulgierten Fetttröpchen zurückzuführen (Hüllenbildung). Durch eine Änderung des Verhältnisses von Eiweiß und Fett zugunsten des letzteren gelingt es, die Fetttröpfchen der Ätherlösung zugänglich zu machen.

Wir waren bemüht, im Tierversuche die Bedingungen des Auftretens und Verschwindens der Hämoconien zu studieren. In erster Linie war dabei die Abhängigkeit von der Nahrungsaufnahme festzustellen. Als Versuchstier verwendeten wir die weiße Ratte, die Katze und das Kaninchen. Es ergab sich, daß die Tiere nach 20 bis 24 stündigem Hungern keine Hämoconien mehr zeigten. Bei absolut fettfreier Ernährung — Grünfutter — war das Serum der Ratte frei von ultramikroskopischen Teilchen. Bei Fütterung mit fettarmer Nahrung — Hafer und Brot — waren dagegen mäßig reichlich Hämoconien nachweisbar. Anders verhielt sich das Kaninchen. Hier waren auch bei tagelang fortgesetzter ausschließlicher Grünfutternahrung bei Beobachtung der strengsten Kautelen (Entfernung der Holzwolle aus dem Käfig) einige Stunden nach der Fütterung mäßig reichlich feine ultramikroskopische Tröpfchen im Blute sichtbar.

K. I. 2. II. Nach 14 stündigem Hungern keine Hämoconien. 9 Uhr früh Grünfutter. 11 Uhr Hämoconien spärlich, 12 Uhr reichlich (Teilchen sehr fein).

K. II. 16. II. Nach 20 stündigem Hungern keine Hämoconien. $^1/_2$ 3 Uhr nachmittags Grünfutter. $^1/_2$ 8 Uhr reichlich Hämoconien.

K. II. Vom 16. bis 23. II. ausschließlich mit Grünfutter ernährt. 18. II. 4 Stunden nach der Futterdarreichung: Hämoconien vorhanden, 20., 21., 22., 23. II. der gleiche Befund.

K. III. Vom 20. II. bis 1. III. ausschließlich mit Grünfutter ernährt. Das Blut wurde zu wiederholten Malen auf Hämoconien untersucht und ergab deren Anwesenheit regelmäßig 3 bis 6 Stunden nach der Mahlzeit.

Dieser Befund ist höchst auffällig und mit unseren bisherigen Auffassungen nicht in Einklang zu bringen. Entweder sind die beim Kaninchen nach Grünfutternahrung nachweisbaren ultramikroskopischen Teilchen mit den Hämoconien nicht identisch oder es findet trotz aller Bedenken, die wir gegen diese Deutung vorläufig haben, beim Pflanzenfresser eine teilweise Umwandlung von Kohlenhydraten in Fett im Darm oder in der Leber statt. Bekannt sind die Versuche von Bleibtreu[1]), der zeigen konnte, daß die bei Kohlenhydratmästung zu beobachtende Lipämie bei Gänsen nur auf die Fettbeimengung der Nahrung zurückzuführen sei, und daß nach Entfettung des Futters die Lipämie ausbleibe. Ferner gelang es weder Lummert[2]) noch Rosenfeld[3]) am Kaninchen eine Fettmästung aus Kohlenhydraten nachzuweisen. Auch v. Bergmann und Reicher[4]) haben die Anschauung Pavys, daß in den Darmzotten Kohlenhydrate direkt in Fett umgewandelt werden, widerlegen können. Wir müssen daher, solange nicht der chemische Nachweis erbracht ist, daß beim Kaninchen auch bei reiner Grünfutternahrung eine Verdauungslipämie besteht, die beobachteten ultramikroskopischen Teilchen entweder auf eine Sichtbarwerdung des nicht vermehrten Fettes (Fettphane-

---

[1]) Bleibtreu, Arch. f. d. ges. Physiol. 85, 1901.

[2]) Lummert zit. nach Rosenfeld.

[3]) Rosenfeld, Berlin. klin. Wochenschr. 1899, Nr. 30.

[4]) v. Bergmann und Reicher, Zeitschr. f. experim. Pathol. 5, 1900.

rose) oder auf die Emulsion eines anderen (Nicht-Fettstoffes) im Serum zurückführen.

Bei Fütterung mit Fett (Milch, Öl, Butter) konnten wir bei der Ratte und Katze regelmäßig nach 2 bis 3 Stunden bereits eine enorme Anreicherung der Hämoconien beobachten. Die Kaninchen zeigten dagegen eine weit geringere Neigung zur Hämoconienbildung nach Fettfütterung, wie dies auch von Kreidl und Neumann[1]) angegeben wurde. Emulgiertes Fett regt beim Kaninchen viel eher Verdauungslipämie an als Fett in nicht emulgierter Form. Die Annahme von Neißer und Bräuning, daß es beim Kaninchen durch Fettfütterung nicht gelingt, trübes Serum zu erhalten, eine Angabe, die neuerdings von Sahai bestätigt wurde, glauben wir durch die Versuche von Kreidl und Neumann als widerlegt ansehen zu können.

Wir haben uns davon überzeugen können, daß die Hämoconienbildung nach Fettfütterung beim Kaninchen erst spät ihren Höhepunkt erreicht, wie dies auch Kreidl und Neumann beobachtet haben. Z. B. K. II erhält am 4. I. um 11 Uhr vormittags 10 ccm Öl. Nach 6 Stunden reichlich Hämoconien.

K. II (nüchtern) erhält 10 ccm Ölemulsion. Hämoconien spärlich. Nach $2^1/_2$ Stunden reichlich, nach 9 Stunden äußerst reichlich.

K. III erhält 10 ccm Olivenöl. Hämoconien spärlich. Nach $2^1/_2$ Stunden reichlich, nach 9 Stunden mäßig reichlich.

Weit stärkere Grade der Lipämie als bei Fütterung mit reinem Fett erreichten wir durch Verabreichung eines Cholesterinölbreies (2 g Cholesterin Merck + 6 ccm Olivenöl erhitzt). Nach 5 bis 6 tägiger Fütterung mit dem Cholesterinöl fanden wir häufig das Serum schon milchartig, während wir bei entsprechend langer Fütterung mit der gleichen Menge reinen Fettes (Öl oder Butter) nur trübes Serum fanden. Wir erinnern daran, daß die Kaninchengalle normalerweise sehr arm an Cholesterin ist und daß andererseits dem Cholesterin nach Moore und Rockwood[2]) eine protektive Wirkung auf das Lösungsvermögen der Galle den Fettsäuren und Seifen gegen-

[1]) Kreidl und Neumann, Sitzungsber. d. math.-naturwiss. Klasse d. Kgl. Akad. d. Wiss. 120, Abt. III, 1911.

[2]) Moore und Rockwood, Proc. Roy. Soc. 60, 438, 1897.

über zukommen soll. Damit könnte die bessere Ausnützung des Fettes bei Gegenwart von Cholesterin in Zusammenhang stehen, wobei noch der Möglichkeit Raum gegeben werden muß, daß auch die Sekretion der Gallensäuren durch das Cholesterin gefördert wird.

Konnten wir also bei Fütterung mit Fett regelmäßig das Auftreten von Hämoconien beobachten, so vermißten wir solche nach Verabreichung von Paraffin oder Lanolin, was vollkommen im Einklang mit den bekannten Versuchen von Connstein[1]) und Henriques und Hansen[2]) steht.

Unseren theoretischen Voraussetzungen entsprechend, fanden wir dagegen 3 bis 4 Stunden nach Verabreichung von Fettsäuren (Palmitinsäure, Erucasäure, β-Oxybuttersäure in Mengen von 1 bis 2 g) bei der Ratte ziemlich reichlich Hämoconien; die Tiere hatten durch etwa 15 Stunden gehungert und bekamen auch während der Beobachtungszeit nichts zu fressen.

Subcutan oder intraperitoneal einverleibtes Fett löst keine Hämoconienbildung aus. Wir verfügen hier über eine Unzahl von Versuchen, bei deren Ausführung uns Herr Kollege Fr. Winter unterstützt hat. Die anfänglich beobachtete Steigerung der Hämoconienmenge erwies sich durch einen Versuchsfehler bedingt. Wir hatten den Tieren die Holzwolle im Käfig gelassen, die die hungrigen Tiere fraßen. Auch hier befinden wir uns in Übereinstimmung mit der geltenden Auffassung, daß subcutan injiziertes Öl nur in kleinen Mengen und sehr langsam resorbiert wird (Winternitz).

Unsere Versuche, die Hämoconien durch Alkali, Säure, Narkotica zu beeinflussen, führten zu einem vollkommen negativen Resultat. Wir können die Beobachtung Reichers[3]), daß während der Narkose eine Vermehrung der Ultrateilchen im Blute auftritt, nicht bestätigen. Es gelingt weder durch protahierte Narcose mit Äther, Chloroform, eventuell bis zum Exitus durchgeführt, noch durch Alkoholinjektionen irgendeine konstante Veränderung im ultramikroskopischen Verhalten des Blutes hervorzurufen. Auch durch intravenöse Injektionen mit Alkohol, die wir an der Ratte und am Kaninchen ausgeführt

---

[1]) Connstein, Arch. f. d. ges. Physiol. 1899, 80.

[2]) Henriques und Hansen, Centralbl. f. Physiol. 14, 313.

[3]) Reicher, Zeitschr. f. klin. Med. 65, 23, 1908.

haben, konnten wir einen Einfluß auf die Hämoconien im Sinne einer Vermehrung oder Verminderung nicht nachweisen.

Fassen wir unsere experimentell gewonnenen Befunde zusammen, so kommen wir zu den folgenden Schlüssen:

1. Die Hämoconien sind feinst emulgierte Tröpfchen von Neutralfett, die während der Fettverdauung in das Blut gelangen. Daselbst erfahren sie durch die Eiweißkörper des Serums, vielleicht durch Umschließung, eine physikalische Änderung ihres Zustandes, die ihre Lösungsbedingungen in Fettsolventien erschwert und ihr chemisches Verhalten modifiziert. Wir haben keinen Grund dazu, außer dieser physikalischen Zustandsänderung eine chemische Bindung der Fetttröpfchen an Eiweiß anzunehmen, wie eine solche von Mansfeld[1]) für das maskierte Blutfett anpostuliert wird.

2. Die Hämoconien treten beim Omnivoren nur nach Fettnahrung auf. Beim Herbivoren haben wir auch bei ausschließlicher Grünfütterung reichlich Ultrateilchen im Blute nachweisen können.

3. Kaninchen, die Fett mit Cholesterin zugeführt bekommer, zeigen stärkere Grade der Lipämie, als bloß mit Fett gefütterte.

4. Auf Einverleibung von Paraffin und Lanolin bleibt die Hämoconienbildung aus. Dagegen tritt sie bei Fütterung mit freien Fettsäuren auf.

5. Subcutan einverleibtes Fett führt nicht zur Entstehung von Hämoconien.

6. Es gelingt weder durch Säure noch durch Alkali, die Hämoconien in vivo zu beeinflussen. Ebensowenig ruft die Narkose Veränderungen im Hämoconiengehalte hervor.

---

[1]) Mansfeld, Centralbl. f. Physiol. 1907; Arch. f. d. ges. Physiol. 129, 1909.

Tryptophanbestimmungen in normalen und pathologischen Nieren.

Von

Elisabeth Kurchin.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Medizinischen Universitätsklinik in Zürich.)

(Eingegangen am 25. Mai 1914.)

Die bekannte physiologische Unentbehrlichkeit des Tryptophans stellt die Fragen in den Vordergrund: einerseits wieviel Tryptophan in aufgenommener Nahrung vorhanden sein soll, andererseits wieviel in dem mit Hilfe dieses Nahrungstryptophans aufgebauten Organeiweiß Tryptophan enthalten ist. Weder bezüglich der einen wie der anderen Frage liegen zurzeit Versuche vor. Auf Anregung von Dr. E. Herzfeld sollten in dieser Richtung Versuche ausgeführt werden, und zwar zunächst über den Tryptophangehalt einiger normaler und pathologischer Nieren. Es wurde mit der Niere deshalb begonnen, weil dieses Organ in seiner sekretorischen Tätigkeit Stoffe ausscheidet, deren Ursprung auf das Tryptophan zurückzuführen ist. Es fragte sich, ob die Niere nur an der Ausscheidung und nicht auch an der Bildung dieser Stoffe beteiligt ist. Das heißt, ob nicht etwa das in der Niere vorhandene Gewebseiweiß unter bestimmten Bedingungen von seinem Tryptophangehalt einen Teil in irgendeiner Form verliert. In solchen Fällen müßte also in der Niere ein niedrigerer Tryptophangehalt gefunden werden. Es wurden insgesamt 50 normale und pathologische Nieren untersucht, wobei nach folgender Methodik verfahren wurde.

Verarbeitung der Nieren.

Die Nieren müssen von frischen Leichen gleich nach der Sektion entnommen werden; zuerst wird das Gewicht jeder Niere bestimmt, dann werden zwei dünne Scheiben von beiden Nieren, ca. 2 g, auf Trockenrückstand geprüft, und zwar bei 80° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, d. h. bis zwei aufeinanderfolgende Wägungen gleich sind, und die Resultate in Prozentzahlen bestimmt; dann wird eine bestimmte Menge auf Tryptophangehalt verarbeitet. Nachdem diese Menge der Nierensubstanz (von jeder Niere entnommen) abgewogen ist, wird diese mittels einer Hackmaschine fein zerhackt; die Hackmaschine muß auseinandergeschraubt und jeder einzelne Teil von etwa anhängenden Nierenresten mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült werden. Den so erhaltenen Brei bringt man in ein starkes Koliertuch, das sich in einer Presse befindet, und preßt vorsichtig die Flüssigkeit aus. Man erhält auf diese Weise eine Flüssigkeit, in der sowohl der Nierenpreßsaft wie auch die roten Blutkörperchen vorhanden sind, die man, wie auch das Fett, mit Hilfe einer elektrischen Zentrifuge durch scharfes Zentrifugieren (10 Minuten lang) aus der Flüssigkeit entfernen kann. Die abgegossenen, ziemlich klaren Lösungen enthielten nur selten eine Spur von Blutfarbstoff. Der Rückstand in der Presse wird nochmals aufgelockert, mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, abermals ausgepreßt, bis der Preßsaft nicht mehr rot gefärbt ist. Diese Preßsäfte werden dann wie oben zentrifugiert und mit den übrigen vereinigt. Die vereinigten Preßsäfte werden mit Wasser auf 500 ccm aufgefüllt, 2,5 g Natrium carbonicum (0,5 %iges Na_2CO_3) und 0,5 g Pankreatin, dessen Tryptophangehalt vorher bestimmt wurde, hinzugefügt, mit einigen Kubikzentimetern Chloroform versetzt und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt, der ziemlich blutfreie Preßrückstand aber in Wasser aufgeschwemmt und destilliert, das Destillat (300 ccm) auf Indol geprüft. Außer einem Falle konnte in keinem Indol nachgewiesen werden. Die Verarbeitung des Rückstandes geschah in derselben Weise wie die des Preßsaftes.

Tabelle I.

Name und Alter	Diagnose	Gewicht der Nieren g	Gewicht der v. M. g	Trock.-Rückstand %	Tryptophan im Preßsaft in v. M. g	Tryptophan im Preßsaft gesamt g	Tryptophan im Rückstand in v. M. g	Tryptophan im Rückstand gesamt g	Tryptophan gesamt g	Tryptophan gesamt korrigiert	Bemerkungen
S. A. 19 J.	HCN-Vergiftung Nephritis parench. Stauungsniere	110 105	100,6	25,00	0,0182	0,0407	0,0180	0,03846	0,07916	0,07625	In 0,5 g Pankreatin ist 0,00026 g Tryptophan vorhanden.
Z. B. 42 J.	Eklampsie	130 115	93,6	22,50	0,0111	0,0290	0,0130	0,03402	0,06302	0,06171	
T. S. 52 J.	Lungengangrän Nephr. chr. interst.	150 160	146,2	20,00	0,0180	0,0381	0,0166	0,03519	0,07329	0,07225	
M. F. 26 J.	Nephritis chr. parenchymatosa	120 115	119,5	17,85	0,0105	0,0206	0,00556	0,01093	0,03153	0,03055	
S. K. neugeboren	Asphyxie	10 10,5	9,6	27,27	0,0037	0,0079	0,0045	0,0096	0,0175	0,01639	
M. F. 4 Mon.	Hypoglotische kongenitale Stenose	37,5	36,7	18,75	0,0036	0,0036	0,0038	0,0038	0,0074	0,00702	
C. M. 2 Mon.	Ernährungsstörung. Dekomposition	22,7	21,2	16,66	0,0040	0,0042	0,0045	0,0048	0,0090	0,00854	
H. H. 1 J.	Diphtherie. Nephr. parench.	43,1	42,1	20,00	0,0042	0,0043	0,0050	0,0101	0,0144	0,00888	
W. 2½ St.	Gehirnhämatom	16,1	15,05	14,28	0,0033	0,0035	0,0037	0,0039	0,0074	0,00693	
T. A. 1½ J.	Schädelfraktur	40 45	36,2	20,00	0,0040	0,0093	0,0050	0,0117	0,0210	0,0199	
F. 62 J.	Struma maligna Ca. metastas. renum	171,5 180	52,1	20,38	0,00555	0,03744	0,00434	0,02928	0,06672	0,0632	
M. L. 13 Mon.	Rachitis. Bronchopneumonie	46	44,6	25,00	0,0037	0,0038	0,0040	0,0041	0,0079	0,00739	
H. E. 68 J.	Mitralklappeninsuf. Arteriosklerosis. Nephr. chr. interst.	141,2	63,4	17,77	0,0143	0,0318	0,0036	0,0081	0,0399	0,03869	Nur eine linke Niere.
Z. F. 51 J.	Encephalomalacie	140 160	68	18,57	0,0063	0,0278	0,0072	0,0317	0,0595	0,05725	
B. E. 20 J.	Tbc. pulmonum	160 130	47,1	21,21	0,0053	0,0326	0,0040	0,0246	0,0572	0,05405	

Tabelle I (Fortsetzung).

Name und Alter	Diagnose	Gewicht der Nieren g	Gewicht der v. M. g	Trock.-Rück-stand %	Tryptophan im Preßsaft in v. M. g	Tryptophan im Preßsaft gesamt g	Tryptophan im Rückstand in v. M. g	Tryptophan im Rückstand gesamt g	Tryptophan gesamt g	Tryptophan gesamt korrigiert	Bemerkungen
N. A. 43 J.	Meningitis tuberculosa Tbc. pulmonum Stauungsniere	186 175	51,5	20,45	0,0067	0,0469	0,0040	0,0280	0,0749	0,07135	
M. J. 36 J.	Tbc. pulmonum Schrumpfniere	100 97	33,8	17,64	0,0033	0,0192	0,0031	0,0180	0,0372	0,03426	
M. W. 59 J.	Peritonitis	136 120	36	20,69	0,0042	0,0298	0,0050	0,0355	0,0653	0,06171	
H. K. 30 J.	Fraktura humeri. Fettembolie. Ruptura renis sin.	90 101	34,9	23,07	0,0045	0,0246	0,0055	0,0301	0,0547	0,05187	
M. O. 21 J.	Meningitis tuberculosa Tbc. renum	210 195	33,5	19,23	0,0043	0,0519	0,0022	0,02659	0,07849	0,07229	
B. H. 47 J.	Infarctus embolicus pulm. post Thrombosis	165 155	40,4	20,00	0,0050	0,0396	0,0050	0,0396	0,0792	0,07508	
E. F. 37 J.	Tbc. pulm. laryngis, intestin. Tbc. renum	101 145	34,2	18,36	0,0042	0,0302	0,0031	0,0223	0,0525	0,04876	
C. F. 29 J.	Peritonitis post abortem	190 180	34,5	18,51	0,0044	0,04719	0,0050	0,0536	0,10079	0,09523	
M. A. 42 J.	Laugenvergiftung. Ösophagusverätzung	170 160	39	21,87	0,0067	0,05669	0,0044	0,0372	0,09389	0,08952	
A. K. 41 Tage	Frühgeburt. Dekomposition	7 6	11,2	16,66	0,0030	0,00348	0,0020	0,00232	0,0058	0,00519	
H. M. 19 J.	Tbc. pulmonum	160 170	40	23,07	0,0063	0,05197	0,0044	0,0363	0,08827	0,05324	
M. 3½ Mon.	Alim. Intoxikation. Lues congen.	21 21	39,7	21,73	0,0040	0,00423	0,0037	0,0039	0,00813	0,00758	
B. K. 78 J.	Ca. flexurae sigmoideae	150 155	29,8	20,58	0,0042	0,0429	0,0028	0,0286	0,0715	0,06631	
L. P. 52 J.	Ca. ventriculi	165 150	32	22,22	0,0059	0,05807	0,0040	0,03937	0,09744	0,09232	
B. R. 72 J.	Arteriosl. universalis. Nekrose d. Großzehe	126 125	27,5	20,68	0,0043	0,0392	0,0033	0,0301	0,0693	0,06461	
B. F. 23 J.	Lungenembolie	150 140	31,7	22,85	0,0076	0,0695	0,0043	0,0393	0,1088	0,10409	

M. B.	16 J.	Typhus abdom. Nephr. paranch.	150 100	29,8	25,00	0,0063	0,0528	0,0043	0,0360	0,0888	0,08456	
M. F.	50 J.	Myosarcoma ventriculi	120 130	32,7	18,75	0,0091	0,0695	0,0032	0,0244	0,0939	0,09005	
W. A.	47 J.	Erysipel. Delir. trem. Nephr. chr. interst.	140 160	28,1	17,64	0,0058	0,0619	0,0022	0,0234	0,0853	0,07985	
H. F.	52 J.	Ca. cervicis uteri	160 170	37,9	20,00	0,0071	0,0618	0,0040	0,0348	0,0966	0,09211	
W. J.	46 J.	Tbc. pulm. Mening. tubercul. Tbc. costae II l. Wanderniere	165 170	33,7	18,75	0,0055	0,0546	0,0033	0,0328	0,0874	0,08229	
W.	27 J.	Tbc. d. r. Niere	140	12	21,87	0,0030	0,0350	0,0020	0,0233	0,0583	0,05226	Das ist bei Lebendem exstirpierte r. Niere wegen tuberkulöser Veränderung.
S. R.	58 J.	Katatonie. Tbc. pulmonum	250 211	30	16,66	0,0040	0,0614	0,0047	0,0722	0,1336	0,12569	
R. R.	63 J.	Dementia senil. Marasmus	140 155	30	17,39	0,0055	0,0540	0,0040	0,0393	0,0933	0,08829	
M. G.	44 J.	Poliencephal. Nephr. chr. interst.	129 118	30	18,18	0,0032	0,0263	0,0010	0,0082	0,0345	0,03029	
F. E.	42 J.	Placenta praevia Anämie d. Nieren	180 155	40	13,33	0,0050	0,0418	0,0014	0,0117	0,0535	0,04923	
S. J.	24 J.	Nephritis parenchymatosa	255 215	40	19,35	0,0056	0,0658	0,0017	0,0199	0,0857	0,07966	
S. C.	$1^1/_2$ J.	Diphtherie Bronchopneumonie	30 29	25	23,80	0,0040	0,0094	0,0020	0,0047	0,0141	0,01292	
P. H.	73 J.	Arterioscler. cerebri. Marasmus senilis	120 110	40	20,00	0,0065	0,0373	0,0058	0,0333	0,0706	0,06773	
P. J.	31 J.	Tbc. laryngis et pulmonum	95 75	35	21,73	0,0028	0,0136	0,0030	0,0145	0,0281	0,02563	
D. L.	32 J.	Portiocarcinom Ureterquetschung Hydronephrose	130 100	38	39,47	0,0067	0,0405	0,0050	0,0302	0,0707	0,06765	Eine Niere war aus harnbereit. System weg. Ureterquetsch. ausgeschaltet.
F. C.	24 J.	Tbc. d. l. Niere	155	40	23,07	0,0076	0,02945	0,0050	0,01937	0,04882	0,04680	Die linke Niere wurde bei Lebendem wegen tuberkulöser Veränderung exstirpiert.
Z. M.	24 J.	Tbc. pulmonum Nephr. parench.	240 175	40	22,58	0,0083	0,08611	0,0031	0,03216	0,11827	0,11287	
G. J.	52 J.	Pleuritis adhaesiva Tbc. pulmonum Stauungsnieren	140 135	40	20,00	0,0071	0,04881	0,0010	0,00687	0,05568	0,05210	
M.	neugeboren	Asphyxie bei Querlage Hyperämie d. Nieren	13,5 13	23,8	25,00	0,0020	0,00222	Spuren	—	0,00222	0,00193	

Tryptophanbestimmung.

Nachdem 24 Stunden im Brutschrank verdaut wurde, versetzte man 50 ccm dieses Verdauungsgemisches mit 10 ccm p-Dimethylaminobenzaldehyd und 40 ccm Salzsäure und ließ einige Tage bei Zimmertemperatur stehen. Sobald nun eine Blaufärbung entstanden ist, wird filtriert und das klare blaue Filtrat mit der ammoniakalischen Kupferlösung verglichen, die auf folgende Weise bereitet wird: 1 g geglühtes Kupfersulfat in 100 ccm Wasser gelöst, davon genau 1 ccm abgemessen, mit etwa 20 ccm Ammoniak versetzt und mit Wasser bis 100 ccm aufgefüllt, gibt eine blaue Lösung, die der Blaufärbung, die von 0,0001 g Tryptophan und salzsaurem p-Dimethylaminobenzaldehyd erzeugt wurde, gleichgestellt werden konnte. Die 10fache Menge der erhaltenen Zahl ergibt Tryptophanmenge in dem Preßsaft bzw. im Rückstand der verarbeiteten Nieren, woraus die gesamte Zahl des Tryptophangehaltes bestimmt wurde.

Versuchsresultate.

Die Versuchsresultate sind aus vorstehender Tabelle I ersichtlich.

Um die Ergebnisse der Tabelle I übersichtlicher zu gestalten, mögen noch einige Zusammenstellungen folgen.

Tabelle II.

Gewicht der Nieren.

a) Normale Fälle.

Anzahl der Fälle	Gewicht der Nieren			Alter	Bemerkungen
	Minim. g	Maxim. g	Mittelwert g		
10	13	330	67,18	jugendl.	Mittelwert d. Gewichte bei 28 normal. Nieren 220,6 g
8	170	370	293,7	mittleres	
10	230	461	299,3	seniles	

b) Pathologische Fälle.

Anzahl der Fälle	Gewicht der Nieren			Alter	Bemerkungen
	Minim. g	Maxim. g	Mittelwert g		
4	26,5	250	133,6	jugendl.	Mittelwert d. Gewichte bei 19 pathologischen Nieren 249,4 g
12	191	470	302,6	mittleres	
3	275	351,5	312,1	seniles	

c) Gewicht der Nieren im Alter von 20 bis 40 Jahren.

Art der Fälle	Anzahl	Gewicht Minim. g	Gewicht Maxim. g	Gewicht Mittelwert g	Bemerkungen	
Normale . . .	6	170	370	282,5	Mittelwert d. Gewichts bei 6 normal. Nieren: 282,5 g	Mittelwert d. Gewichte bei 17 Fällen in diesem Alter: 292,2 g
Tbc. d. Nieren .	2	246	405	325,5	Mittelwert der Gewichte bei 11 pathol. Nieren 298,6 g	
Nephr. parench.	3	235	470	391		
Nephr. int. chr..	2	197	247	222		
Stauungsniere .	1	—	—	361		
Nierenruptur .	1	—	—	191		
Anämie d. Niere	1	—	—	335		
Hydronephrose	1	—	—	230		

Aus der Tabelle II ist ersichtlich, daß die Gewichte sowohl bei normalen wie bei pathologischen Fällen mit dem Alter zuzunehmen scheinen. Ferner ist hervorzuheben, daß durch Tuberkulose und parenchymatöse Nephritis veränderte Nieren hohe Gewichte zeigen.

Tabelle III.

Trockenrückstand.

a) Normale Fälle.

Anzahl der Fälle	Trockenrückstand Minim. %	Trockenrückstand Maxim. %	Trockenrückstand Mittelwert %	Alter	Gewicht im Mittelwert g	Bemerkungen
10	14,28	27,27	20,72	jugendl.	67,18	Mittelw. d. Trockenrückst. b. 28 normal. Nieren 20,39 %
8	18,51	22,85	20,92	mittleres	293,7	
10	16,66	22,22	19,55	seniles	299,3	

b) Pathologische Fälle.

Anzahl der Fälle	Trockenrückstand Minim. %	Trockenrückstand Maxim. %	Trockenrückstand Mittelwert %	Alter	Gewicht im Mittelwert g	Bemerkungen
4	20,00	25,00	23,75	jugendl.	133,6	Mittelw. d. Trockenrückst. b. 19 path. Nieren 21,96 %
12	13,33	39,47	22,01	mittleres	302,6	
3	20,00	20,38	20,12	seniles	312,1	

c) Trockenrückstand im Alter von 20 bis 40 Jahren.

Art der Fälle	Anzahl	Trockenrückstand Minim. %	Maxim. %	Mittelwert %	Gewicht im Mittelwert g	Bemerkungen
Normale . . .	6	18,51	22,85	21,44	282,5	Mittelwert d. Trockenrückstandes bei 6 normal. Nieren 21,44 %; Mittelwert d. Trockenrückstände bei 17 Fällen in diesem Alter 21,64%
Tbc. d. Nieren .	2	18,36	19,23	18,79	325,5	Mittelwert d. Trockenrückst. bei 11 pathol. Nieren 21,84%
Nephr.parench.	3	17,85	22,58	19,92	391	
Nephr. int. chr.	2	17,64	18,18	17,91	222	
Stauungsniere .	1	—	—	20,45	361	
Nierenruptur .	1	—	—	23,07	191	
Anämie d.Niere	1	—	—	13,33	335	
Hydronephrose	1	—	—	39,47	230	

Bezüglich des Trockenrückstandes finden wir sowohl zwischen normalen wie pathologischen Fällen eine ziemlich gute Übereinstimmung der Mittelwerte. Nur scheint größerem Nierengewicht ein geringerer Trockenrückstand zu entsprechen.

Alter hat keinen Einfluß.

Tabelle IV.

Tryptophangehalt.

a) Normale Fälle.

Anzahl der Fälle	Tryptophangehalt Minim. g	Maxim. g	Mittelwert g	Alter	Gewicht im Mittelwert	Bemerkungen
10	0,0058	0,0882	0,0187	jugendl.	67,18	Mittelw. d. Tryptophangeh. bei 28 normal. Nieren 0,0603
8	0,0288	0,1007	0,0773	mittleres	293,7	
10	0,0595	0,1336	0,0851	seniles	299,3	

b) Pathologische Fälle.

Anzahl der Fälle	Tryptophangehalt Minim. g	Maxim. g	Mittelwert g	Alter	Gewicht im Mittelwert	Bemerkungen
4	0,0022	0,0888	0,0461	jugendl.	103,2	Mittelw. d. Tryptophangeh. b. 19 path. Nieren 0,0586
12	0,0315	0,1182	0,0648	mittleres	302,6	
3	0,0556	0,0732	0,0651	seniles	312,1	

c) Tryptophangehalt der Nieren im Alter von 20 bis 40 Jahren.

Art der Fälle	Anzahl	Tryptophangehalt Minim. g	Tryptophangehalt Maxim. g	Tryptophangehalt Mittelwert g	Gewicht im Mittelwert	Bemerkungen
Normale . . .	6	0,0288	0,1088	0,0753	282,5	Mittelwert des Tryptophangeh. bei 6 normal. Tieren 0,0753
Tbc. d. Nieren .	2	0,0525	0,0784	0,0654	325,5	Mittelwert des Tryptophangeh. bei 11 path. Nieren 0,0619; Mittelwert des Tryptophangeh. bei 17 Fäll. i. d. Alter 0,0707
Nephr. parench.	3	0,0315	0,1182	0,0784	391,0	
Nephr. int. chr.	2	0,0345	0,0372	0,0358	222,0	
Stauungsniere .	1	—	—	0,0749	361,0	
Nierenruptur .	1	—	—	0,0547	191,0	
Anämie d. Niere	1	—	—	0,0535	335,0	
Hydronephrose	1	—	—	0,0707	230,0	

Aus der Tabelle IV ist hervorzuheben, daß der Tryptophangehalt bei normalen Fällen etwas höher ist wie bei pathologischen. Ferner steigt der Tryptophangehalt mit dem Alter. Vergleicht man Nieren in ungefähr gleichem Alter und ähnlichem Gewicht bezüglich ihres Tryptophangehaltes (s. Tab. IVc), so sieht man, daß die höchsten Werte (etwa 76 mg) die normalen Nieren haben und die auffallend niedrigen Werte (etwa 36 mg) zeigen Nieren mit Nephritis interstitialis chronica. Auch der Mittelwert sämtlicher pathologischen Nieren ist etwas kleiner als der von normalen Nieren.

Über aromatische Quecksilberverbindungen. IV.

Von

Ferdinand Blumenthal und Kurt Oppenheim.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 9. Juni 1914.)

Wir haben früher berichtet[1]), daß bei den gesättigten aromatischen Quecksilberverbindungen, die von uns untersucht wurden, die Verteilung des Hg in den Organen eine verschiedene war, und zwar abhängig von den Seitenketten. Während bei den amidierten Präparaten eine Affinität des Hg zur Leber nicht oder nur in geringem Maße vorhanden war, wurde dieselbe sehr ausgesprochen, wenn die Amidogruppen durch Nitro- oder Oxygruppen ersetzt wurden. Ja, es zeigte sich, daß die Einführung von OH oder NO_2-Gruppen ein Verweilen von Hg im Blute zur Folge hatte, wie wir es bis dahin nicht beobachtet haben. Wir haben nunmehr auch die Verteilung des Hg in den Geweben bei den halbmaskierten und ionisierbaren Hg-Verbindungen untersucht, um festzustellen, ob bei diesen beiden Gruppen an und für sich Unterschiede in der Affinität der Gewebe zum Hg vorhanden sind, bzw. ob die Einführung von Seitenketten bei den aromatischen halbkomplexen Verbindungen ein ähnliches Ergebnis zeitigte wie bei den völlig maskierten.

Von dem Salicylquecksilber ist bereits berichtet worden, daß das Hg nur in der Leber angelagert wird. Die folgenden Untersuchungen beziehen sich auf ähnliche halbkomplexe Verbindungen.

---

[1]) Diese Zeitschr. **39**, Heft 1 und 2.

1. Verteilung des Hg in den Organen nach Einspritzung von Quecksilbersalicyl.

Nr.	Versuchstier	Dosis g	Zeit bis zur Tötung bzw. Tod	Hg-Gehalt				
				Leber	Lunge	Blut	Darm	Gehirn
1	Kaninchen	0,05	48 Stunden	+	0	0	++	—
2	„	0,1	96 „	++	—	0	+++	0
3	„	0,025	72 „	+++	0	—	+++	0

2. Verteilung von Hg in den Geweben nach subcutaner Einführung von Asurol.

Versuch 1.

Am 18. I. 1912 erhält ein Kaninchen von 3650 g 0,2 g Asurol subcutan. Es wird am 20. I. getötet, die Organe werden auf Hg untersucht. Blut minimale Spuren, Lunge nichts, Leber +++, Darm ++++, Gehirn nichts, Muskeln deutliche Spuren.

Versuch 2.

Kaninchen, 2630 g, hat am 27. V. 1911 0,2 g Asurol subcutan erhalten. Tod am 30. V.

Darm +++, Leber +++, Gehirn 0. Weitere Protokolle sind früher mitgeteilt[1]).

Die Versuche mit Asurol haben also ergeben, daß die Ausscheidung durch den Darm geschieht und daß eine wesentliche Ablagerung von Hg nur in der Leber statthat.

Versuche mit Asurol.

Nr.	Versuchstier	Dosis g	Zeit bis zur Tötung bz. Tod	Hg-Gehalt						
				Leber	Blut	Lunge	Muskel	Niere	Darm	Gehirn
				a) subcutan						
1	Kaninchen	0,2	2 Tage	+++	min. Spur	0	deutl. Spur	—	++++	0
2	„	0,2	3 „	+++	—	—	—	—	+++	0
3	„	0,1	6 „	+	—	min. Spur	—	—	++++	0
4	„	0,2	2 „	+++	min. Spur	0	—	—	+++	0
5	„	0,2	3 „	+++	—	—	—	—	++	0
				b) intravenös						
1	Kaninchen	0,025	8 Tage	+	—	0	—	—	++	0

3. Versuche mit nitrooxymercuribenzoesaurem Natrium.

Versuch 1.

11. II. 1914. Ein Kaninchen erhält ca. 0,2 g in 1%iger Kochsalzlösung aufgeschwemmt, unter Zusatz von ein paar Tropfen Sodalösung

[1]) Diese Zeitschr. 57, Heft 3 und 4.

subcutan. Am 1. III. wird das Tier getötet und das Blut auf Quecksilber untersucht. Hg +.

Versuch 2.

18. II. 1914. Ein Kaninchen von 2020 g erhält 0,5 g in Wasser unter Zusatz von etwas Kochsalz und Sodalösung per os. Am 19. ist kein Harn vorhanden, das Tier frißt schlecht. Am 20. läßt es um Mittag ca. 150 ccm Harn, der eine sehr schwache α-Naphtholreaktion zeigt, die sich nach der Reduktion mit Zink etwas verstärkte. Am 21. ist kein Harn vorhanden, am 22. und 23. 70 ccm Harn, α-Naphtholreaktion schwach, ebenso nach der Reduktion mit Zink. Am 23. wird das Tier getötet. In der Blase finden sich 50 ccm Harn, die die gleiche schwache α-Naphtholreaktion geben und auf Hg untersucht werden. Hg ++. Bei der Sektion zeigt die Niere eine sehr starke Kalkablagerung und Blutungen unter der Kapsel. Organe, auf Hg untersucht, geben folgendes Resultat: Blut ++, Darm ++++, Leber +++, Lunge Spur, Gehirn 0.

Versuch 3.

27. II. 1914. Ein Kaninchen erhält 0,2 g, gelöst in Natriumchlorid, mit etwas Sodazusatz subcutan. Das Tier wird am 28. getötet und die Organe auf Hg untersucht. Blut +, Darm +++, Leber +, Lunge 0, Gehirn 0.

Versuch 4.

6. III. 1914. Ein Kaninchen erhält 0,2 g in 1%iger Kochsalzlösung mit etwas Sodazusatz aufgeschwemmt subcutan. Das Tier ist am 9. tot. Es gelingt nur wenig Blut zu bekommen, das auf Hg untersucht wird nebst anderen Organen. Blut 0, Leber +, Lunge +.

Versuch 5.

6. III. 1914. Ein Kaninchen erhält 0,2 g gelöst in 1%iger Kochsalzlösung unter Sodazusatz subcutan. Das Tier wird am 7. getötet und die Organe auf Hg untersucht. Blut 0, Leber ++, Lunge 0.

Versuch 6.

12. III. 1914. Ein Kaninchen erhält 0,02 g intravenös. Das Tier wird nach 24 Stunden getötet und die Organe auf Hg untersucht. Blut 0, Darm +, Leber deutliche Spur, Lunge 0, Gehirn 0.

b) Versuche bei Ratten.

Versuch 1.

16. II. 1914. Eine Ratte erhält ca. 0,1 g in Kochsalzlösung mit ein paar Tropfen Soda gelöst subcutan. Es ging bei der Injektion etwas verloren. Das Tier wird am 17. getötet, die Organe auf Hg untersucht. Blut 0, Darm +++, Leber deutliche Spur, Lunge sehr geringe Spur, Gehirn 0.

Versuch 2.

20. II. 1914. Eine Ratte erhält 0,1 g subcutan. Am 21. wird das Tier getötet. Die Organe werden auf Hg untersucht. Im Blut findet sich eine minimale Spur, im Darm +++, Leber deutliche Spur, Lunge deutliche Spur, Gehirn 0.

Nr.	Versuchstier	Dosis g	Untersucht nach	Hg-Gehalt				
				Leber	Lunge	Blut	Darm	Gehirn
1	Kaninchen	0,2	18 Tgn.	—	—	+	—	—
2	„	0,5 (per os)	5 „	+++	Spur	++	++++	0
3	„	0,2	24 Std.	+	0	+	+++	0
4	„	0,2	3 Tgn.	+	+	0 (?)	—	—
5	„	0,2	24 Std.	++	0	0	—	—
6	„	0,02 (intrav.)	24 „	deutl. Spur	0	0	+	0
7	Ratte	0,1 (?)	24 „	„ „	sehr ger. Spur	0	+++	0
8	„	0,1	24 „	„ „	deutl. Spur	min. Spur	+++	0

Bei Einführung von nitrooxymercuribenzoesaurem Natrium auf verschiedenen Wegen findet sich neben stets vorhandener Ablagerung in Leber und Darm mehrmals Hg in Blut und Lunge, jedoch nicht konstant. Die früher[1]) auf Grund unserer älteren Versuchsbeobachtungen ausgesprochene Ansicht, daß Hg stets nur in der Leber und nicht im Blute sich findet, ist demnach zu berichtigen.

4. Verteilung von Hg in den Organen nach Einführung von acetylaminomercuribenzoesaurem Natrium (Toxynon).

a) Kaninchen.

Versuch 1.

Am 11. XI. 1911 erhält ein Kaninchen von 1810 g 0,5 g subcutan. Am 13. ist es tot. Sektion: Darmblutungen, Leber ++, Darm +++, Lunge +, Gehirn 0.

Versuch 2.

Am 13. XI. 1911 erhält ein Kaninchen von 2030 g 0,3 g. Es tritt Durchfall ein. Am 17. ist das Tier tot; die Untersuchung der Organe auf Quecksilber ergibt folgendes: Leber ++, Darm +++, Lunge +, Gehirn nichts.

Versuch 3.

Am 29. XI. 1911 erhält ein Kaninchen von 2940 g 0,2 g. Am 30. ist Durchfall eingetreten, der am 1. und 2. XII. anhält.

Am 5. XII. finden sich 280 ccm Harn,
„ 6. und 7. XII. ist kein Harn vorhanden,
„ 8. finden sich 270 ccm Harn.

[1]) Diese Zeitschr. 57, 277, Heft 3 und 4.

Das Tier stirbt. Bei der Sektion finden sich im Darm Hämorrhagien; die Organe werden auf Hg untersucht: Gehirn 0, Lunge minimale Spuren, Darm +++, Leber +++.

Versuch 4.

Am 22. IV. 1912 erhält ein Kaninchen von 3810 g ca. 0,2 g subcutan.

Am 23. sind 310 ccm Harn vorhanden,
„ 24. und 25. findet sich kein Harn,
„ 26. werden um 12 Uhr mittags 360 ccm Harn gelassen,
„ 27. „ „ 12 „ „ 150 „ „ „ .

Am 28. stirbt das Tier. Sektionsbefund: Blutungen an der Oberfläche der Nieren, leichte Nephritis. Untersuchung auf Hg: im Darm 0, Leber +++, Lunge 0, Harn 0.

Versuch 5.

Am 27. IX. 1912 erhält ein Kaninchen von 1760 g 0,2 g in ca. 14 ccm Wasser gelöst subcutan. Nach 3 Tagen stirbt das Tier. Die Organe werden auf Hg untersucht, Leber ++, Darm ++, Lunge +, Gehirn 0, Muskeln 0.

Versuch 6.

Am 16. X. 1912 erhält ein Kaninchen von 2550 g 0,175 g in 10 ccm Wasser subcutan gelöst. Am 20. ist das Tier tot. Die Untersuchung der Organe auf Quecksilber ergibt: Darm +++, Leber ++, Lunge +, Muskeln 0.

Versuch 7.

Am 21. X. 1912 erhält ein Kaninchen von 2900 g 0,16 g in 10 ccm Wasser gelöst subcutan. Am 25. ist das Tier tot. Es findet sich Hg im Darm +++, Leber ++, Lunge +, Muskeln Spur.

Versuch 8 und 9.

Am 22. X. 1912 erhalten zwei Kaninchen von 2600 g und 2450 g je 0,2 g Toxynon subcutan. Beide sterben nach 3 Tagen.

1. Tier: Leber ++, Lunge +, Muskel Spur, Darm +++, Gehirn 0.
2. „ : „ ++, „ +, „ „ , „ ++, „ 0.

Die folgenden Versuche sind bei intravenöser Einführung von Toxynon angestellt.

Versuch 10.

Am 12. IX. 1912 erhält ein Kaninchen von 2370 g 0,025 g in 1 ccm 10 $^0/_0$iger Piperazinlösung. Das Tier wird nach 20 Stunden getötet. Die Untersuchung der Organe auf Hg ergibt: Blut 0, Muskeln 0, Lunge 0, Leber Spur, Darm ++.

Versuch 11.

Am 8. X. 1912 erhält ein Kaninchen von 2470 g 3 ccm Toxynonlösung (0,2 g in 10 ccm Wasser = 0,075 g). Nach 3 Tagen ist das Tier

tot. Ergebnis der Organuntersuchung: Leber Hg +++, Darm ++++, Lunge, Gehirn, Muskeln 0.

Versuch 12.

Am 21. X. 1912 erhält ein Kaninchen von 2950 g 1 ccm 1%iger Toxynonlösung in Piperazin intravenös, d. h. 0,05 g. Das Tier ist nach 8 Tagen tot. Die Untersuchung der Organe auf Hg ergibt: Darm +++, Leber +, Lunge, Muskeln 0.

Versuch 13.

17. II. 1913. Ein Kaninchen von 1800 g erhält 0,05 g in 1%iger Chlornatriumlösung. Nach 4 Tagen ist das Tier tot. Die Untersuchung der Organe auf Hg ergibt: Nieren +++, Muskeln 0.

Die folgenden Versuche sind per os angestellt.

Versuch 14.

Am 22. IX. 1912 erhält ein Kaninchen von 2650 g 0,1 g in 20 ccm Wasser gelöst per os. Das Tier wird nach 3 Tagen getötet. Der Quecksilbergehalt der Organe ist folgender: Blut deutliche Spuren, Lunge, Gehirn, Muskeln 0, Leber ++, Urin ++, Darm ++++.

Versuch 15.

Am 27. IX. 1912 erhält ein Kaninchen von 1900 g 0,1 g in 20 ccm Wasser gelöst. Nach 3 Tagen wird das Tier getötet. Der Quecksilbergehalt der Organe ist folgender: In der Blase Urin ++++, Darm +++, Leber ++, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln 0, Blut geringe Spur.

b) Ratten.

Versuch 16.

Eine Ratte erhält 0,01 g; nach 2 Tagen getötet. Leber +, Darm ++, Lunge Spur, Gehirn 0.

Versuch 17 und 18.

Am 20. I. 1912 erhalten 2 Ratten je 0,01 g in 1 ccm Wasser gelöst subcutan. Am 22. werden die Tiere getötet und die Organe untersucht. Tier I: Blut minimale Spuren, Lunge nichts; Tier II: Blut Spuren, Lunge nichts.

Versuch 19 und 20.

Am 7. X. 1912 erhalten 2 Ratten von einer Lösung 0,1 g in 10 ccm Wasser bzw. $2^1/_2$ ccm subcutan, d. h. 0,01 und 0,025 g Toxynon. Das erste Tier stirbt nach 48 Stunden, das zweite nach 72 Stunden. Die Organuntersuchung ergibt: Tier I: Leber ++, Darm +++, Lunge +, Gehirn 0, Muskeln +; Tier II: Leber ++, Darm +, Lunge +, Gehirn 0, Muskeln minimale Spur.

Versuch 21.

Eine Ratte erhält 0,05 g subcutan; stirbt nach 2 Tagen. Leber +, Lunge Spur, Darm ++, Gehirn 0.

Versuch 22.

Eine Ratte erhält 0,03 g subcutan; stirbt nach 3 Tagen. Leber +, Lunge Spur, Darm ++, Gehirn 0.

Versuche mit acetylaminomercuribenzoesaurem Natrium (Toxynon).

Nr.	Versuchstier	Dosis g	Zeit bis zur Tötune bzw. Tod	Hg-Gehalt						
				Leber	Blut	Lunge	Muskel	Niere	Darm	Gehirn
1	Kaninchen	0,5 (subc.)	2 Tage	++	–	+	–	–	+++	0
2	"	0,3 (subc.)	4 "	++	–	+	–	–	+++	0
3	"	0,2 (subc.)	10 "	+++	–	min. Sp.	–	–	+++	0
4	"	0,2 (subc.)	6 "	+++	–	0	–	–	0	–
5	"	0,2 (subc.)	3 "	++	–	+	0	–	++	0
6	"	0,175 (subc.)	4 "	++	–	+	0	–	+++	–
7	"	0,16 (subc.)	4 "	++	–	+	Spur	–	+++	–
8	"	0,2 (subc.)	3 "	++	–	+	+	–	++	0
9	"	0,2 (subc.)	3 "	++	–	+	Spur	–	+++	0
10	"	0,025 (intrav.)	20 Std.	Spur	0	0	0	–	++	–
11	"	0,075 (intrav.)	3 Tage	+++	–	0	0	–	++++	0
12	"	0,05 (intrav.)	8 "	+	–	0	0	–	++	–
13	"	0,05 (intrav.)	3 "	–	–	–	0	+++	–	–
14	"	0,1 (per os)	3 "	++	Spur	0	0	–	++++	0
15	"	0,1 (per os)	3 "	++	Spur	0	0	–	+++	0
16	Ratte	0,01	2 "	+	–	Spur	–	–	++	0
17	"	0,01	2 "	–	min. Sp.	0	–	–	–	–
18	"	0,01	2 "	–	Spur	0	–	–	–	–
19	"	0,01	2 "	++	–	+	+	–	+++	0
20	"	0,025	3 "	++	–	+	Spur	–	+	0
21	"	0,05	2 "	+	–	Spur	–	–	++	0
22	"	0,03	3 "	+	–	Spur	–	–	++	0

Die Versuche mit Toxynon zeigen uns, daß sowohl bei subcutaner wie intravenöser Darreichung das Quecksilber zum großen Teil durch den Darm ausgeschieden wird. Eine Ablagerung findet konstant in der Leber statt, Spuren sind

auch im Blut (unter 5 Versuchen) 4 mal gefunden worden. Öfters aber nicht konstant war Quecksilber in der Lunge vorhanden, gelegentlich auch im Muskel, und als einmal die Niere untersucht wurde, fand sich, wie zu erwarten, eine reichliche Quecksilbermenge in der Niere. Niemals wurde auch nur die geringste Spur von Hg im Gehirn gefunden. Bei intravenöser Einführung ist schon nach 20 Stunden kein Quecksilber mehr im Blut nachweisbar gewesen.

5. Versuche mit einem komplexen anorganischen Salz (Quecksilberkaliumnitrit, $Hg(NO_2)_2\,3\,KNO_2 + H_2O$ enthält 35,40 % Hg).

a) Kaninchen.

Versuch 1.

9. XII. 1912. Ein Kaninchen von 1850 g erhält 5 cg Quecksilberkaliumnitrit in 5 ccm Wasser gelöst subcutan. Das Tier lebt vom 10. bis 13. ohne in dieser Zeit Harn zu lassen, am 13. stirbt es. Bei der Sektion finden sich Hämorrhagien im Darm, außerdem ist Ascitesflüssigkeit vorhanden. Die Untersuchung auf Hg ergibt: Darm +++, Leber +++, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln sehr geringe Spur.

b) Ratten.

Versuch 1.

2 Ratten erhalten 0,01 und 0,012 g subcutan. Nach 4 Tagen sind beide Tiere tot. Nr. 1: Leber +, Lunge 0, Muskeln 0, Gehirn 0, Darm +. Nr. 2: Leber +, Lunge 0, Muskeln 0, Gehirn 0, Darm deutliche Spur.

6. Versuche mit einem komplexen organischen Salz (Quecksilberkaliumrhodanid, $Hg(NCS)_2\,2\,NCSK$ enthält 39,22 % Hg).

Versuch 1.

11. I. 1913. 2 Ratten erhalten 6 resp. 8 mg Quecksilberkaliumrhodanid subcutan. Am 15. stirbt Nr. 1, am 17. Nr. 2. Von dem zweiten Tier werden Darm und Muskeln auf Hg untersucht. Darm äußerst geringe Spuren, Muskeln 0.

Versuch 2.

7. I. 1913. 3 Ratten erhalten von einer Lösung von Quecksilberkaliumrhodanid 0,1 : 10 6 mg und 1 cg subcutan. Am 9. sind zwei von den Tieren gestorben, am 11. stirbt auch das dritte Tier.

Die Organuntersuchung ergibt: Nr. 3: Leber ++, Darm äußerst geringe Spur, Lunge 0, Gehirn 0, Muskeln sehr geringe Spur. Bei der Sektion war die Niere blaßrot gefärbt, sonst war nichts Besonderes zu konstatieren.

Verteilung des Hg in den Organen nach Anwendung komplexer Salze.

Nr.	Versuchstier	Dosis ccm	Zeit bis zum Tode	Hg-Gehalt Leber	Blut	Lunge	Muskel	Gehirn	Darm
a) Versuche mit Quecksilberkaliumnitrit.									
1	Kaninchen	0,05	4 Tage	+++	—	0	sehr geringe Spur	0	+++
2	Ratte	0,01	4 „	+	—	0	0	0	+
3	Ratte	0,012	4 „	+	—	0	0	0	dtl. Spur
b) Versuche mit Quecksilberkaliumrhodanid.									
1	Ratte	0,006	6 Tage	++	—	0	sehr geringe Spur	0	äußerst geringe Spur
2	„	0,008	4 „	—	—	—	0	0	do.

Die Untersuchung bei den komplexen Quecksilbersalzen ergab eine Ausscheidung des Quecksilbers durch den Darm und eine Ablagerung von Quecksilber in der Leber. In anderen Organen wurde nichts oder nur eine äußerst geringe Spur gefunden.

7. Versuche mit kolloidalem Hg (Elektromercurol).

a) Ratten.

Versuch 1 und 2.

Am 25. XI. erhalten 2 Ratten 1 und 2 ccm Elektromercurol gleich 1 und 2 cg. Am 27. ist das Tier, das 2 ccm erhalten hat, tot; das andere lebt am 2. XII. noch und kommt durch. Von dem toten Tier werden die Organe auf Hg untersucht. Leber, Lunge enthalten nichts, Gehirn Spuren.

Versuch 3.

26. I. Eine Ratte erhält $1^1/_2$ ccm Elektromercurol (Clin) intravenös. Das Tier wird am 27. getötet. Blut nichts, Gehirn nichts, Lunge nichts, Leber deutliche Spuren.

Versuch 4.

30. I. Eine Ratte erhält $1^1/_2$ ccm Elektromercurol subcutan. Am 31. wird sie getötet. Leber, Lunge, Blut, Gehirn nichts.

b) Kaninchen.

Versuch 5.

9. II. Ein Kaninchen, Gewicht 3770 g, erhält 2 ccm Elektromercurol in die Ohrvene gespritzt. Am 10. wird das Tier getötet. Blut, Lunge, Leber, Gehirn enthalten kein Hg.

Versuch 6.

18. XI. 1913. Kaninchen von 3100 g erhält 5 ccm Elektromercurol (Clin) subcutan. Am 19. XI. 420 ccm Harn, Hg-Gehalt +; am 20. XI.

495 ccm Harn, Hg-Gehalt deutliche Spur; am 21. XI. 330 ccm Harn, Hg-Gehalt deutliche Spur. Tier wird getötet. Blut 0, Leber 0, Muskeln 0, Gehirn 0, Darm ?.

Nr.	Versuchs-tier	Dosis ccm	Zeit bis zur Tötung	Hg-Gehalt					
				Blut	Leber	Lunge	Gehirn	Darm	Muskel
1	Ratte	2,0	48 Std.	—	0	0	Spuren	—	—
2	"	1,0	48 "	0	0	0	0	+	—
3	"	1,5	24 "	0	dtl. Spur	0	0	—	—
4	"	1,5	24 "	0	0	0	0	—	—
5	Kaninchen	2,0 (intrav.)	24 "	0	0	0	0	—	—
6	"	5,0	3 Tage	0	0	—	0	?	0

Die Versuche mit kolloidalem Quecksilber ergaben, daß eine Affinität zu den Geweben fehlte. Nur in einem Versuch ist eine deutliche Spur von Hg in der Leber gefunden worden.

8. Verteilung des Quecksilbers in den Organen nach Anwendung von Hg-Salzen.

a) Versuche mit orthoamidobenzoesaurem Quecksilber.

Am 31. X. werden 0,05 g orthoamidobenzoesaures Quecksilber in 10 ccm Wasser aufgeschwemmt. 2 Ratten erhalten die gleiche Menge subcutan. Infolge einer Undichtigkeit der Spritze ging etwas verloren. Die Tiere bekamen annähernd 0,01 g Substanz. A. stirbt am 1. XI. B. wird am 2. XI. getötet. Die Untersuchung der Organe auf Quecksilber ergibt folgende Resultate:

A. Leber Hg +, Darminhalt sehr geringe Spuren, Lunge —.

B. Leber Hg +, Darminhalt Hg +, Lunge und Blut —.

b) Versuche mit Quecksilberacetat.

Am 21. XI. erhalten 2 Ratten 5 resp. 4 mg Quecksilberacetat (und zwar eine Lösung des Salzes hergestellt, in der 1 ccm = 1 mg enthalten ist).

Am 22. ist das Tier, das 5 mg erhalten hatte, tot, das andere lebt. Am 23. lebt das Tier, das 4 mg erhalten hatte, weiter. Am 24. stirbt auch dieses Tier. Bei der Untersuchung des ersten Tieres findet sich in der Leber Hg +, im Darm nichts, in der Lunge geringe Spuren, im Gehirn nichts.

Der Darm des zweiten Tieres weist Quecksilber auf.

c) Versuche mit Quecksilberoxycyanat.

Am 25. XI. erhalten 2 Ratten 2 und 4 ccm gleich 2 und 4 mg Quecksilberoxycyanat. Am 27. sind beide tot. Bei der Untersuchung der Organe auf Hg finden sich in der Leber Spuren, Darm Hg +, Lunge nichts, Gehirn nichts.

d) Versuche mit Quecksilberbijodid.

Am 5. XII. erhalten 2 Ratten $^1/_2$ ccm = 5 mg Bijoudure de mercure (Clin). Am Nachmittag des 6. stirbt eins der beiden Tiere; am 7. ist das andere auch tot. Bei der Untersuchung der Organe auf Hg ergibt sich folgendes: Leber minimale Spuren, Darm +, Gehirn, Lunge nichts.

e) Versuche mit Kalomel.

Versuch 1.

Am 28. VI. erhält ein Kaninchen 0,7 g Kalomel in 5 ccm Öl subcutan. Am 12. VII. stirbt das Tier, die Leber enthält Hg ++.

Versuch 2.

Am 27. VI. erhält ein Kaninchen von 2000 g 0,1 g Kalomel. Am 12. VII. stirbt das Tier. Leber Hg +++. Nach der Injektion von 0,085 g Hg sind 15 Tage später noch reichliche Mengen von Hg in der Leber nachweisbar.

Versuch 3.

Am 28. VI. erhält eine große Ratte ca. 1 g Kalomel in Öl subcutan. Am 3. Juli ist das Tier tot. Darminhalt, Leber und Niere Hg +, Gehirn nichts.

Versuch 4.

Am 24. XI. werden 0,1 g Kalomel in Öl emulgiert einer Ratte subcutan eingespritzt. Am 27. wird das Tier getötet. Die Organe werden auf Hg untersucht, Darm Hg +, Leber Hg +, Blut nichts, Gehirn nichts, Lunge nichts.

f) Versuche mit Sublimat

bereits früher publiziert[1]).

g) Versuche mit paranucleinsaurem Quecksilbernatrium[2]).

Versuch 1.

13. II. 1913. Ein Kaninchen von 1400 g erhält 3 cg Quecksilber in 6 ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilber.

Am 14. sind 10 ccm Harn vorhanden,
„ 15. ist kein Harn vorhanden,
„ 16. und 17. sind 60 ccm vorhanden von dunkler Farbe.

Das Tier ist krank und stirbt. Bei der Sektion finden sich in den Nieren Kalkablagerungen. Die Organuntersuchung auf Quecksilber hat folgendes Resultat: Blut 0, Darm ++++, Leber +++, Gehirn 0, Lunge 0, Muskeln 0, Nieren +++.

---

[1]) Diese Zeitschr. **36**, 291; **57**, H. 3 und 4.

[2]) Präparat von Geheimrat Professor E. Salkowski dargestellt.

Versuch 2.

11. III. 1913. Ein Kaninchen von 2100 g erhält 0,005 g Quecksilber in 1 ccm einer Lösung von paranucleinsaurem Quecksilbernatrium intravenös.

Am 12. sind 430 ccm Harn vorhanden, an demselben Tage werden noch 110 ccm gelassen. Das Tier wird getötet. Bei der Sektion zeigt sich nichts Besonderes. Die Nieren sind blaß und etwas Kalk ist abgelagert. Die Untersuchung der Organe auf Hg ergibt: Blut Spur, Darm ++, Leber +, Niere +++, Lunge Spur, Gehirn 0, Muskeln geringe Spur.

Nr.	Versuchstier	Zeit bis zur Tötung	Dosis	Hg-Gehalt				
				Blut	Leber	Lunge	Gehirn	Darm
			a) Orthoamidobenzoesaures Quecksilber.					
1	Ratte	24 Std.	0,01 g	—	+	0	—	Spur
2	„	48 „	0,01 g	0	+	0	—	—
			b) Quecksilberacetat.					
1	Ratte	24 Std.	0,005 g	—	+	min. Spur	0	0
2	„	72 „	0,004 g	—	—	—	—	+
			c) Quecksilberoxycyanat.					
1	Ratte	48 Std.	0,002 g	—	min. Spur	0	0	+
2	„	48 „	0,004 g	—	min. Spur	0	0	+
			d) Quecksilberbijodid.					
1	Ratte	24 Std.	0,005 g	—	min. Spur	0	0	+
2	„	36 „	0,005 g	—	min. Spur	0	0	+
			e) Kalomel.					
1	Kaninchen	14 Tage	0,7 g	—	++	—	—	—
2	„	15 „	0,1 g	—	+++	—	—	—
3	Ratte	5 „	0,1 g	—	+	—	0	+
4	„	3 „	0,1 g	0	+	0	0	+
			f) Sublimat.					
1	Kaninchen	48 Std.	0,02 g	min. Spur	++	—	—	—
2	„	48 „ nach d. letzten Injektion	5 × 0,004 g alle 24 Std.	0	+	0	0	++
3	„	96 Std.	0,02 g	0	—	0	0	—
4	„	7 „	intraven. 0,01 g	0	+	min. Spur	0	—
5	„	5 „	intraven. 0,01 g	0	+	0	0	—
			g) Paranucleinsaures Quecksilber.					
1	Kaninchen	4 Tage	0,03 g	0	+++	0	—	++++
2	„	24 Std.	0,005 g	Spur	+	Spur	0	++

Diese Versuche ergeben, daß die Hg-Salze sowohl durch den Darm wie auch durch die Nieren ausgeschieden wurden. Es zeigte sich stets dasselbe, nämlich eine konstante stärkere Affinität zur Leber. Sonst wurden gelegentlich Spuren im Blut, in der Lunge und im Muskel gefunden, während im Gehirn niemals Hg festgestellt werden konnte.

Es entstand nun die Frage, ob die Verteilung des Quecksilbers in den Geweben, die bisher immer nur nach einer einzigen Einspritzung untersucht worden war, sich anders gestaltete, wenn diese Einspritzungen wiederholt wurden. Bei den aromatischen Arsenikalien, z. B. beim Atoxyl, hatten wir dabei Unterschiede in der chemischen Affinität zu den Geweben kennen gelernt. Es wurden eine Reihe solcher Untersuchungen vorgenommen, und es zeigte sich, daß die Ergebnisse nicht von denen nach einmaliger Einspritzung abwichen. Bei diesen Versuchen wurden die Dosen absichtlich recht klein gewählt, um Vergiftungen zu vermeiden. Ein deutlicher Unterschied zeigte sich nicht. Wenn man überhaupt aus den Ergebnissen einen Schluß ziehen will, so ist es der, daß bei Einspritzung einer einmaligen großen Dosis die Affinität zur Leber größer ist, als bei fraktionierter Einspritzung.

9. Versuche über die Verteilung des Quecksilbers nach wiederholter Injektion.

Versuch 1.

Am 13. XI. erhält ein Kaninchen von 2200 g 0,06 g Nitroquecksilberbenzoat in 1⁰/₀iger Chlornatriumlösung aufgelöst subcutan. Am 14., 15., 16. und 17. erhält es die gleiche Menge, im ganzen also 0,3 g. Am 18. wird das Tier getötet. Bei der Untersuchung auf Quecksilber werden folgende Resultate erhalten: Leber Hg ++, Darm +++, Gehirn nichts, Lunge nichts, Blut +.

Versuch 2.

11. II. 1914. Ein Kaninchen von 2370 g erhält 0,06 g in 1⁰/₀iger Kochsalzlösung heiß gelöst subcutan. Die gleiche Lösung wird am 12., 13., 14. und 16. wiederholt, so daß im ganzen 0,3 g einverleibt sind. Am 17. wird das Tier getötet. Im Blut finden sich deutliche Spuren von Hg.

Versuch 3.

Am 29. XI. erhält ein Kaninchen 0,02 g Quecksilbersalicylat, am 30. die gleiche Portion, ebenso am 1., 2. und 4. XII., im ganzen also 0,1 g. Am 5. XII. wird das Tier getötet. Es findet sich Hg in der Leber +, Darm +, Lunge, Gehirn, Blut nichts.

Versuch 4.

Am 11. X. erhält ein Kaninchen von 2750 g 4 mg Sublimat in 4 ccm Wasser gelöst subcutan.

Am 12. wird die gleiche Dosis gespritzt, ebenso am 13., 14. und 15., so daß das Tier im ganzen 0,02 g Sublimat erhalten hat. Am 17. wird es getötet, die Untersuchung auf Quecksilber ergibt: Gehirn 0, Leber +, Lunge 0, Darm ++, Muskeln und Blut 0.

Versuch 5 und 6.

15. X. 1912. Von einer Toxynonlösung 0,1 g in 10 ccm Wasser erhalten 2 Ratten innerhalb von 5 Tagen 3 Injektionen von je 0,01 g. Die letzte Injektion erfolgt am 19. Am 21. werden die Tiere getötet. Die Organuntersuchung auf Hg ergab folgendes Resultat: Ratte I: Darm Spuren, Leber stärkere Spuren, Lunge 0, Muskeln 0; Ratte II: Darm +, Leber 0, Lunge 0, Muskeln 0.

Versuch 7.

21. II. 1912. Eine Ratte erhält 0,01 g subcutan in 4 Portionen von je 0,0025 g Toxynon am 21., 23., 24. und 26. Das Tier wird am 28. getötet. Blut, Leber, Lunge, Gehirn, Muskeln nichts.

Versuch 8 und 9.

29. II. 1912. Zwei Ratten erhalten je 0,01 g Toxynon in 4 Portionen subcutan, und zwar je 0,0025 g am 29. II., 1. und 4. III.

Tier I wird am 5. getötet. Blut nichts, Leber Spur, Lunge, Gehirn, Muskeln nichts.

Tier II wird am 7. getötet, die Organe enthalten nichts.

Versuch 10.

4. IX. 1912. Ein Kaninchen von 2370 g erhält 1 ccm einer Lösung von 0,25 g Toxynon in 10 ccm 10%iger Piperazinlösung = 0,025 g subcutan.

Am 5. sind 170 ccm Harn vorhanden,
„ 6. „ 270 „ „ „
„ 7. „ 100 „ „ „
„ 8. und 9. sind 820 ccm Harn vorhanden.

Von da an reichliche Mengen Harn bis zum 12. An diesem Tage erhält das Tier 1 ccm obiger Lösung intravenös und wird nach 20 Stunden am 13. früh getötet. Die Organe werden auf Hg untersucht. In der Leber findet sich eine Spur, Darm ++, Blut 0, Muskeln 0, Lunge 0.

Quecksilberverteilung nach wiederholter Injektion.

Nr.	Versuchstier	Dosis	Zeit bis zum Tode	Hg-Gehalt Leber	Lunge	Muskel	Darm	Gehirn	Blut
			a) Nitroquecksilberbenzoat.						
1	Kaninchen	5 × 0,06 g = 0,3 g	5 Tage	++	0	–	+++	0	+
2	„	5 × 0,06 g = 0,3 g	5 „	–	–	–	–	–	deutl. Spur
			b) Quecksilbersalicylat.						
3	Kaninchen	5 × 0,02 g = 0,1 g	7 Tage	+	0	–	+	0	0
			c) Sublimat.						
4	Kaninchen	5 × 0,004 g = 0,02 g	6 Tage	+	0	0	++	0	0
			d) Toxynon.						
5	Ratte	3 × 0,01 g = 0,03 g	6 Tage	stärk. Spur	0	0	Spur	–	–
6	„	3 × 0,01 g = 0,03 g	6 „	0	0	0	+	–	–
7	„	4 × 0,0025 g = 0,01 g	6 „	0	0	0	–	0	0
8	„	4 × 0,0025 g = 0,01 g	5 „	Spur	0	0	–	0	0
9	„	4 × 0,0025 g = 0,01 g	7 „	0	0	0	–	0	0
10	Kaninchen	1 × 0,025 g subcutan und dito intravenös	9 „	Spur	0	0	++		0

Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß eine Ablagerung von Hg konstant nur in der Leber stattfindet und daß fast alle Quecksilberverbindungen, ganz gleich in welcher Bindungsart das Quecksilber vorhanden ist, eine solche Ablagerung in der Leber erkennen lassen, mit Ausnahme des kolloidalen Quecksilbers, des Natrium- und des Quecksilbersalzes der Diaminodiphenylcarbonsäure[1]). In den beiden letzteren Verbindungen sind Amidogruppen vorhanden, und da das Quecksilbersalz dieser Säure ebenfalls eine Ausnahmestellung in bezug auf die Deponierung von Quecksilber in der Leber einnimmt, so könnte dies zu der Vermutung führen, daß die Amidogruppe die Ablagerung von Quecksilber in der Leber hindert. Bei dem Toxynon dagegen haben wir, obwohl ebenfalls eine Amidogruppe vorhanden ist, trotzdem stets Hg in der Leber gefunden;

[1]) Siehe diese Zeitschr. 39, 50.

hier aber ist das eine Wasserstoffatom derselben ersetzt durch eine Acetylgruppe. Vielleicht ist dies für die Organaffinität von Bedeutung.

Der eine von uns hatte früher die Hypothese geäußert, daß die Wirksamkeit eines Quecksilberpräparates abhängig von der vorherigen Deponierung in der Leber sei. Diese Hypothese gründete sich auf die Tatsache, daß nach subdermaler Anwendung aller in der Quecksilbertherapie wirksamen Präparate, soweit sie bis dahin untersucht waren, Quecksilberdepots in der Leber nachgewiesen werden konnten, während solche Verbindungen, die sowohl bei der menschlichen wie bei der tierischen Syphilis nur eine geringe Wirkung zeigten, wie das kolloidale Quecksilber und die obenerwähnten amidierten Produkte so gut wie keine Affinität zu den Geweben aufwiesen. Diese Beobachtung legte den Gedanken nahe, daß die Leber etwas mit der Heilwirkung zu tun hat. Dieser Gedanke erhielt noch durch die Tatsache eine Stütze, daß die Leber überhaupt bei zahlreichen anderen Vergiftungen der Ort ist, wo die chemische Umwandlung der Gifte in eine ungiftige Modifikation sich vollzieht. Ferner ist von Franz Blumenthal festgestellt worden, daß die Quecksilberverbindungen im Vergleich zu den Arsenverbindungen verhältnismäßig langsam die Spirochäten zum Verschwinden bringen. Diese Tatsache legt die Annahme nahe, daß bei der Hg-Behandlung erst im Organismus die Bildung spirillocider Substanzen statthat. Bei denjenigen Quecksilberpräparaten, bei denen, wie Franz Blumenthal feststellen konnte, eine langsame Abtötung der Spirochäten statthat, kann man sich die Inkubationsdauer der Wirkung so vorstellen, daß das eingeführte und in der Leber deponierte Hg dort erst in die wirksame Substanz umgewandelt wird. Es ist das natürlich nur eine Hypothese. Gegen diese Hypothese würde es sprechen, wenn es Quecksilberverbindungen gäbe, die, ohne in der Leber deponiert zu werden, direkt antisyphilitisch wirken. Unter den zahlreichen von uns untersuchten Verbindungen scheint aber eine derartige nicht gewesen zu sein. Eine solche Verbindung müßte eine schnelle Wirkung auf die Spirochäten entfalten, eine ebenso schnelle wie die aromatischen Arsenikalien. Kolle und Rothermund behaupten vom Argulan, daß es wirke, trotzdem es nicht in der Leber deponiert

werde. Bisher allerdings können wir die Versuche von Kolle und Rothermund für die Frage der Kaninchensyphilis nicht als entscheidend ansehen, da die von ihnen gefundenen Tatsachen bei der Hühnerspirillose festgestellt sind. Wir sind der Ansicht, daß diese Ergebnisse nicht ohne weiteres für die Kaninchensyphilis maßgebend sind. Daß dieser Einwand durchaus berechtigt ist, geht aus einem sehr interessanten Befund von Schrauth und Schoeller hervor, die festgestellt haben, daß ein von ihnen untersuchtes Quecksilberpräparat ein vorzügliches Mittel gegen die Rekurrenzspirochäte war, sich aber nur sehr schwach wirksam bei der Kaninchensyphilis zeigte. Weiter fragt es sich, ob die Affinität zu anderen Geweben, die einzelnen von uns untersuchten Verbindungen zukommt, ein Maßstab ist für reine spirillocide Wirksamkeit. Wir haben festgestellt, daß die Dinitro- und die Dioxyverbindungen der maskierten aromatischen Quecksilberverbindungen eine stärkere Affinität zum Blute haben. Trotzdem haben sie sich bei der menschlichen Syphilis nicht als genügend starke Antisyphilitica bewiesen, und man kann daher nicht sagen, daß das mehr oder minder lange Verweilen von Quecksilber im Blut an und für sich mit der antisyphilitischen Wirkung etwas zu tun hat. Diese Annahme wird noch dadurch bekräftigt, daß gerade eine sehr wirksame Verbindung wie das Kalomel keine Affinität zum Blute zeigt. Wir haben wenigstens niemals auch nur eine Spur von Hg im Blute gefunden. Nun fragt es sich, inwieweit die Frage der chemischen Affinität des Quecksilbers zu der Leber bzw. zu anderen Geweben eine Bedeutung hat für die Frage der Heilung. Bei der Vergiftung hat man früher angenommen, daß, je mehr Organe das Gift in sich aufspeichern, dies um so schlimmer für das betreffende Tier ist, bis sich beim Tetanus zeigte[1]), daß dies nicht der Fall zu sein braucht. Beim Tetanus ist nur die Bindung des Giftes an das Zentralnervensystem schädlich, weil Krämpfe erregend, dagegen ist eine Bindung an die Lunge, Niere, Leber, da hierdurch Krämpfe nicht erzeugt werden, gleichgültig. Ja, es ist sogar diese Bindung ein Schutz, indem diese Organe als Blitzableiter wirken, denn sie fixieren das Gift, das sonst in die Nervensubstanz gedrungen und dort die tödliche Schädigung hervorgerufen hätte.

[1]) v. Leyden-Blumenthal, Der Tetanus.

So ist das Kaninchen gerade dadurch, daß es mit den verschiedensten Organen Tetanusgift zu fixieren vermag, relativ geschützt und weit weniger empfänglich für das Tetanusgift als das Meerschweinchen, das die eingeführte Tetanusmenge vollständig in seinem Zentralnervensystem aufspeichert. Auf das Quecksilber übertragen, braucht also eine Bindung von Quecksilber an ein Organ darum keineswegs giftig zu sein, z. B. die Bindung an die Leber, deren chemische oder physikalische Affinität nichts mit Giftwirkung bzw. spezifischer Wirkung zu tun hat. Auf der anderen Seite kann auch ohne Bindung einfach durch Milieuveränderung eine toxische bzw. eine spirillocide Wirkung hervorgerufen werden. Wir tun daher gut, da wir über den Mechanismus solcher Vorgänge bei der Einfuhr von Hg in den Tierkörper nichts wissen, auch nicht zu viel zu präjudizieren, sondern uns vorläufig auf das gesicherte Ergebnis zu beschränken, daß eine konstante Gewebsaffinität außer zur Leber und zu den beiden Ausscheidungsorganen, Niere und Darm, bei den Quecksilberverbindungen nicht existiert.

Es hat sich nun weiter aus unseren Versuchen ergeben, daß bestimmte Seitenketten für die Affinität der Gewebe zum Quecksilber von Bedeutung sind. So haben wir oben schon erwähnt, daß nach Einspritzen des Diaminoprodukts Quecksilber auch nicht in der Leber gefunden wird. Das gleiche zeigte sich, als ein Quecksilbersalz der Diaminomercuribenzoesäure angewandt wurde, in dem 29,8 % ionisierbares Quecksilber vorhanden ist. Da sonst nach Einführung ionisierbarer Hg-Verbindungen konstant in der Leber Hg gefunden wird, so ist es wahrscheinlich, daß es die Amidogruppe gewesen ist, welche die Bindung des Quecksilbers in der Leber verhindert hat. Obwohl nun diese Verbindung 5 mal giftiger ist als das entsprechende Natriumsalz, ist hier keine Affinität zu den Geweben vorhanden. Daraus geht hervor, daß die Giftigkeit der Quecksilberverbindung und Affinität des Quecksilbers zu den Geweben keineswegs identisch ist, ja daß hohe Giftigkeit auch ohne chemische Affinität vorhanden sein kann, also Milieuveränderung.

Ziehen wir das Fazit aus unseren Arbeiten und aus den angestellten experimentellen Untersuchungen, insbesondere denen von Franz Blumenthal, so zeigt sich, daß wir bisher

wenigstens unter den von uns untersuchten aromatischen Hg-Verbindungen keine gefunden haben, die in ihrer Wirkungsweise eine überraschende Überlegenheit gegenüber allen anderen Quecksilberverbindungen, insbesondere gegenüber den Quecksilbersalzen gezeigt hat. Von solchen Leistungen, wie sie das Atoxyl bei der Schlafkrankheit und das Salvarsan bei der Syphilis gegenüber anderen Arsenpräparaten, insbesondere den anorganischen, dokumentiert, ist bei den aromatischen Hg-Verbindungen keine Rede, im Gegenteil, wir brauchen bei diesen Verbindungen eher mehr Quecksilber, um den gleichen Effekt zu erzielen als bei den anorganischen, und wenn wir von den anorganischen Quecksilberverbindungen, insbesondere vom Kalomel und grauen Öl, deren therapeutische Wirkungen durchaus befriedigen, abkommen möchten, so geschieht dies, weil diese Verbindungen häufig nicht nur lokale Reizungen ausüben, sondern auch allgemeine Intoxikationen hervorrufen. Wir können mit den verschiedensten Quecksilberverbindungen ausgezeichnete therapeutische Effekte erzielen, und es ist, so wie die Situation heute liegt, bei jedem Quecksilberpräparat, das wir anwenden, nicht nur die Intensität der Wirkung, sondern auch die Giftigkeit und die Bequemlichkeit der Applikation in Erwägung zu ziehen. Es kann daher nicht behauptet werden, daß es bei der Quecksilbertherapie ebenso sei wie bei der Arsentherapie, bei der das Salvarsan als einziges Arsenpräparat für die Behandlung der Syphilis in Betracht kommt, weil es in bezug auf seine toxikologischen und therapeutischen Eigenschaften allen anderen Arsenverbindungen bei dieser Krankheit überlegen ist, sondern wir werden von Fall zu Fall, wenn wir ein Quecksilberpräparat wählen, zu überlegen haben, ob wir dieses oder jenes Präparat in Anwendung ziehen. Neben dem ganz besonders stark wirkenden grauen Öl und Kalomel kann man die intravenös verabreichbaren aromatischen Hg-Verbindungen für viele Fälle sicherlich schon wegen der Möglichkeit der intravenösen Applikation mit großem Nutzen gebrauchen, und wir möchten für diesen Zweck auf Grund unserer Tierversuche und auf Grund der an Menschen angestellten Erfahrungen von Gutmann das Toxynon besonders erwähnen.

Zum Verhalten der Glucuronsäure im Organismus.

Von

Johannes Biberfeld.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Breslau.)

(Eingegangen am 16. Juni 1914.)

Seitdem Schmiedeberg und H. H. Meyer[1]) die Glucuronsäure dargestellt haben, hat dieses eigenartige Stoffwechselprodukt das Interesse der Forscher hauptsächlich in einer Richtung erfahren, in der Ermittlung seiner Herkunft im lebenden Organismus; denn wenn man auch bis zum Beweis des Gegenteils mit Recht die Glucose als seine Vorstufe voraussetzte, so waren doch noch eine Reihe von Fragen unerledigt. Wird z. B. die vom Organismus zur Paarung benutzte Glucuronsäure (und auch bei dem von Neuberg und Mayer[2]) sichergestellten Vorkommen in normalem Harn handelt es sich ja stets um einen Paarling) aus dem Zucker der Nahrung entnommen bzw. aus dem Vorratsglykogen gebildet und stellt vielleicht die Glucuronsäure die erste Stufe des Zuckerabbaues überhaupt dar? Es wäre dann anzunehmen, daß von der stets in großer Menge sich bildenden Glucuronsäure nur der zur Paarung mit bestimmten Substanzen verwendete Anteil durch diese vor der Verbrennung (oder Spaltung) bewahrt werde. Oder aber stammt die Glucuronsäure von der Kohlenhydratkomponente gewisser Eiweißkörper und wird dementsprechend nur bei Gegenwart des betreffenden Giftes gebildet bzw. aus der Chondroitinschwefelsäure herausgelöst[3])? All das ist vielfältig erörtert wor-

---

[1]) Schmiedeberg und Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 3, 422.

[2]) C. Neuberg und P. Mayer, Zeitschr. f. physiol. Chem. 29, 256.

[3]) Vgl. O. Schmiedeberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 28, 386 und Krawkow, ebenda 40, 195 ff.

den, allerdings ohne daß bisher (vgl. hierüber die ausführliche Arbeit von Fenyvessy[1]) eine erschöpfende Antwort gegeben werden konnte. Viel weniger Beachtung hat für die Glucuronsäure die zweite Frage gefunden, die wir für jedes im Stoffwechsel auftretende chemische Individuum stellen müssen, die Frage nach ihrem Schicksal im Organismus, wenn man sie dort nicht von selbst entstehen, sondern frei, d. h. ohne ihr Gelegenheit zur Anlagerung zu geben, kreisen läßt. Und doch ist diese Frage von großer Wichtigkeit, wenn wir in der Glucuronsäure die erste Stufe des normalen Zuckerabbaues sehen. So finden wir auch in neueren Werken (z. B. in der Neuauflage des Huppertschen Lehrbuchs der Harnanalyse, Wiesbaden 1913 S. 1497) die Angabe, daß die Glucuronsäure im Organismus verbrannt werde; nur nach parenteraler Zufuhr großer Mengen trete ein kleiner Teil in den Harn über. Und in der neuesten III. Auflage seines Lehrb. d. physiol. Chem. 1914 sagt Abderhalden (I. 126): „Wir kommen somit zum Schlusse, daß nichts dagegen spricht, daß die Glucuronsäure ein ganz normales Zwischenprodukt beim Abbau der Glucose ist.“ Diese Angabe stützt sich, soweit ich die Literatur übersehen kann, hauptsächlich auf die umfangreiche Arbeit von P. Mayer[2]); er fand eine, man kann sagen, fast unbegrenzte Zerstörungsfähigkeit des Organismus für Glucuronsäure. So trat in einem seiner Versuche (Nr. 2 S. 81) nach subcutaner Injektion von 5 g glucuronsaurem Na in dem innerhalb von 36 Stunden entleerten Harn keine Reduktion auf; in anderen Versuchen mit 10 bis 19 g glucuronsaurem Na war eine starke Reduktion vorhanden, die P. Mayer zum Teil auf eine akzessorische Glucosurie bezieht (Darstellung von Glucosazon); in einigen Versuchen mit derartig großen Mengen konnte er aber auch den Übertritt von ungepaarter Glucuronsäure in den Harn nachweisen. (Darstellung der Neubergschen Bromphenylhydrazinverbindung[3]).

[1]) Fenyvessy, Arch. internat. de Pharmacodynam. 12, 407.

[2]) Paul Mayer, Zeitschr. f. klin. Med. 47, 68.

[3]) Nicht verständlich erscheint es, wenn Paul Mayer (l. c. S. 81) in einem seiner Versuche von einer „Säureintoxikation“ spricht; er hat ja stets glucuronsaures Natrium injiziert und, wenn überhaupt etwas, könnte er durch die Injektion solch riesiger Mengen organischen Salzes

Eine weitere experimentelle Untersuchung über das Schicksal der Glucuronsäure (und verwandter Körper) im lebenden Organismus ist von Baumgarten[1]) in der Moritzschen Klinik ausgeführt worden; er fand, daß nach Verfütterung von Glucuronsäure (ebenso wie von Gluconsäure, Zuckersäure und anderen nahestehenden Säuren) an Diabetiker alle diese Substanzen glatt verbrannt wurden, obwohl er große Mengen verfütterte (z. B. wurden an einen Diabetiker 13,5 g Glucuronsäure gegeben).

Danach läge bei der Glucuronsäure eine vollkommene Analogie zum Traubenzucker vor, der ja ebenfalls bei übergroßer parenteraler Zufuhr zum Teil im Harn wiedererscheint.

Im letzten Jahre habe auch ich eine Reihe von Versuchen mit Kohlenhydratsäuren angestellt; der Ausgangspunkt dieser Versuche war der Gedanke, ob es möglich sei, z. B. in Durchströmungsversuchen an überlebenden Organen einigen Aufschluß zu gewinnen einerseits darüber, ob und event. welche Substanzen außer der Dextrose Glucuronsäure bilden können, andererseits, ob sich bei geeigneter Leitung der vorausgesetzten Spaltung (bzw. Oxydation) irgendwelche Abbauprodukte der Glucuronsäure auffinden lassen. Ich fand nun schon bei den ersten, gewissermaßen als Vorversuche angestellten Experimenten eine Tatsache, die mich veranlaßte, daß Schicksal parenteral zugeführter Säure von neuem zu untersuchen; über das hierbei Gefundene soll im folgenden berichtet werden.

Methodik.

Die früheren Untersuchungen sind meist mit der aus Purree bzw. der Euxanthinsäure bereiteten Glucuronsäure angestellt worden; allerdings fehlt häufig jede Angabe, wie und woraus der betreffende Untersucher die Säure dargestellt habe. Da

---

(analog der Einführung von z. B. Natr. acetic.) nur eine übermäßige Alkalisierung des Organismus zuwege gebracht haben. Weiterhin spricht M., gestützt auf den Nachweis von einigen Zentigramm Oxalsäure, auch von „Oxalsäurevergiftung", für die jedoch in den von ihm geschilderten Symptomen kein Anhalt zu finden ist. Es hat sich vielmehr allem Anschein nach um sog. „Salzwirkung" (19 g Salz für ein ca. 1900 g schweres Kaninchen!) gehandelt.

[1]) Zeitschr. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 2, 53.

aber jetzt dieses einfache Ausgangsmaterial kaum mehr zu beschaffen ist, blieb mir zur Gewinnung der gebrauchten immerhin größeren Mengen nur der von C. Neuberg[1]) angegebene Weg übrig: die Glucuronsäure durch Verfütterung von Menthol an Kaninchen zu erzeugen und als gepaarte Säure in Form des Ammoniaksalzes zu isolieren. Mit der von I. Bang angegebenen Modifikation[1]) (Fällung des Harnes mit Ammonsulfat) ist dies eine sehr leichte und bequeme Art, um zu der gepaarten Säure zu gelangen. Allerdings ist es mir, trotzdem ich das Menthol genau in der von Neuberg (l. c.) empfohlenen Weise beibrachte, nie geglückt, dieselben Tiere monatelang als Glucuronsäurespender zu benutzen. Selbst bei geeigneter Fütterung (s. w. u.) nahm die Fähigkeit, die Mentholglucuronsäure zu liefern, in relativ kurzer Zeit ab, um schließlich auf ein Minimum zurückzugehen, so daß die Halbsättigung mit $(NH_4)_2SO_4$ nur eine schwache, kaum abfiltrierbare Trübung des Harnes ergab. Als Beispiel sei folgender Versuch angeführt.

Kaninchen, 2000 g, seit 10 Tagen mit täglich 2,0 g Menthol gefüttert; der am 7., 8. und 9. IV. ausgeschiedene Urin liefert zusammen 2,093 Mentholglucuronsäure, durchschnittlich also 0,7 g.

Kaninchen, 2000 g, noch nicht benutzt, liefert am 8. IV. auf Zufuhr von 2,0 Menthol 2,56 g Mentholglucuronsäure.

Die Tiere wurden in gleicher Weise gefüttert, die Harnmengen durch Katheterismus abgegrenzt. Die Mentholglucuronsäure bestimmte ich polarimetrisch unter Zugrundelegung der für die alkoholische Lösung ermittelten Drehung.

Immerhin war es möglich, auch bei Benutzung von 2 bis 3 Kaninchen in wenigen Wochen 20 bis 25 g reiner, schneeweißer Mentholglucuronsäure zu gewinnen; einmaliges Umkrystallisieren aus saurem, heißem Wasser genügte fast stets zur Reinigung.

Schwieriger war die Gewinnung der Glucuronsäure selbst; ich habe weder bei genauester Innehaltung der von C. Neuberg[3]), noch der von Lefèvre-Tollens[4]) für die Euxanthinsäure ge-

[1]) C. Neuberg und S. Lachmann, diese Zeitschr. 24, 416, 1910.
[2]) I. Bang, diese Zeitschr. 32, 445, 1911.
[3]) C. Neuberg, Ber. 33, 3315, 1900.
[4]) K. U. Lefèvre und C. Tollens, Ber. 40. 4513, 1907.

gebenen Vorschrift (mehrstündiges Kochen unter 2 bis 3 Atmosphären Druck mit 0,2 bzw. 1,0%iger Schwefelsäure) zur Hydrolisierung bei der Mentholglucuronsäure auch nur annähernd die theoretisch mögliche und erreichbare Ausbeute erhalten; meist gewann ich aus ca. 20 g der Mentholglucuronsäure schließlich nach der Reinigung[1]) mit Bleiacetat und Fällung mit Bleiessig nur etwa 2 bis 3 g freie Glucuronsäure. Ganz schlecht war das Resultat, als ich die gepaarte Säure am Rückflußkühler, also bei normalem Druck, mit 1%iger Schwefelsäure 24 Stunden lang gekocht hatte. Und auch die Reinigung war ziemlich schwierig; das Menthol liefert bei der Hydrolyse der gepaarten Säure anscheinend viel Verunreinigungen, die trotz der Ausschüttelung mit Äther und Fällung mit Bleiacetat doch zum großen Teil in den mit basischem Bleiacetat erzeugten Niederschlag übergingen; die aus diesem gewonnene Glucuronsäurelösung war immer noch relativ dunkel gefärbt und auch durch Behandlung mit Tierkohle nicht völlig zu entfärben[2]). Eine weitere Schwierigkeit bot die Frage der quantitativen Bestimmung. Da ich für meine Zwecke nur kleine Mengen der freien Säure anwenden durfte, war die Isolierung dieser aus Organbrei und Harn in Gestalt der schließlich allein absolut beweisenden Bromphenylhydrazinverbindung (oder auch nur eines Alkaloidsalzes) nicht möglich, zumal nicht quantitativ. Ich habe deshalb für diesen Zweck die Reduktionsfähigkeit der Glucuronsäure benutzt. Wie schon Thierfelder[3]) feststellte, besitzt die Glucuronsäure dieselbe molekulare Reduktionskraft wie die Dextrose, was ja selbstverständlich ist, da beide die gleiche reduzierende Gruppe und nur diese in ihrem Molekül besitzen. Der Bequemlichkeit halber habe ich mich zur quantitativen Ermittlung der Reduktion der von Bang für die Zuckerbestimmung angegebenen Lösungen und Tabellen bedient; daß diese letzteren auch für die Glucuronsäure anwendbar sind, habe ich (vielleicht überflüssigerweise) durch folgenden Versuch festgestellt: 1 ccm einer sauren Glucuronsäurelösung hatte, nach Bang behandelt, einen Gehalt von

---

[1]) Gemäß der Vorschrift von Neuberg (diese Zeitschr. **24**, 416) wurde jeder Überschuß von Bleiacetat sorgfältig vermieden.

[2]) Ebenso verhielt sich auch das nach Tollens gewonnene Filtrat vom Bariumcarbonat.

[3]) Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. **11**, 388.

28,7 mg reduzierender Substanz; dieselbe Lösung, neutralisiert und im Verhältnis 4:5 verdünnt, zeigt pro Kubikzentimeter nach der Tabelle einen Gehalt von 23,0 mg statt 22,8, also recht genaue Übereinstimmung.

Außer dieser quantitativen Bestimmung wurden meist noch qualitative Proben auf Glucuronsäure ausgeführt.

Versuche.

Mit der wie geschildert gewonnenen Glucuronsäurelösung habe ich nach genauer Neutralisation mit Natriumcarbonat einen Vorversuch angestellt, der über die Wirkung von Hundeleberpulver[1]) auf die Säure orientieren sollte. Er verlief folgendermaßen: Eine neutrale Glucuronsäurelösung, von der 1 ccm bei der Titration nach Bang 24,4 ccm Hydroxylaminlösung verbrauchte (= 24,7 mg), wird mit Hundeleberpulver (10 ccm der Lösung mit ca. 2 g Pulver, die vorher mit etwas physiologischem Kochsalzlösung angerieben waren) angesetzt; andere 10 ccm werden mit 2 g Leberpulver vermischt, die vorher mit etwas NaCl-Lösung stark gekocht waren. Nach 24 Stunden hatten beide filtrierte Lösungen den Hydroxylamintiter **24,4**.

Die Glucuronsäure war mithin quantitativ auch in der Probe mit dem aktiven Leberpulver wiedergefunden worden. Da jedoch immerhin der Einwand möglich war, das (ca. 4 Wochen vorher bereitete) Leberpulver habe nicht mehr genügend Fermente besessen, habe ich noch folgenden Versuch gemacht: 10 ccm neutraler Glucuronsäurelösung (Titer 1 ccm = 24,4 ccm Hydroxylamin) werden mit etwa 1 g frischen Kaninchenleberbreis, andere 10 ccm mit ca. 1 g von demselben Brei, der vorher mit etwas NaCl-Lösung gekocht war, versetzt und nach reichlichem Mentholzusatz (zur Verhinderung der Fäulnis) in den Brutschrank gebracht. Nach 24 Stunden hat das Filtrat von dem frischen Brei den Titer **24,8**, das andere den Titer **24,4** (wahrscheinlich durch die Kochsalzlösung etwas verdünnt).

Also auch hier keine Spur einer Zerstörung (ebensowenig von einer Bildung) von Glucuronsäure. Und zum (tatsächlich

---

[1]) Bereitet nach den Vorschriften von Pohl-Wiechowski; vgl. Abderhalden, Arbeitsmethoden **5**, 659.

wohl kaum erforderlichen) Nachweis, daß die normale Kaninchenleber keine Glucuronsäure enthält, diente noch:

Ca. 100 g frischen Kaninchenleberbreis werden mit physiologischer Kochsalzlösung, der reichlich Menthol zugesetzt ist, 6 Stunden lang geschüttelt. Dann wird die Flüssigkeit abgegossen, mit einer Spur Essigsäure gekocht, filtriert; das Filtrat stark eingeengt, von den ausgeschiedenen Flocken abfiltriert, gibt keine Orcinreaktion.

Aus diesen Experimenten folgt mit Sicherheit, daß normale Kaninchenleber nicht die Fähigkeit besitzt, Glucuronsäure zu zerstören. Da wir nun kaum einem anderen Organ den vorausgesetzten Abbau der Säure vindizieren können, wenn die Leber vollständig versagt, so mußte dieses überraschende Resultat zum Zweifel an der Zerstörbarkeit überhaupt und somit dazu führen, den Versuch am ganzen Tier mit kleinen Mengen anzustellen, die aber nicht zu klein sein durften, um noch den quantitativen Nachweis im Harn zu gestatten. Und schon der erste Versuch zeigte, daß die Glucuronsäure auch für den Gesamtorganismus unangreifbar ist.

Kaninchen, 1500 g. 9^h katheterisiert; 20 ccm 0,9 %ige NaCl-Lösung in eine Ohrvene.

$10^h\ 00'$ 2 ccm Urin, kein Zucker.

$10^h\ 15'$ 20 ccm neutraler 1,7 %iger Glucuronsäurelösung in eine Ohrvene.

$11^h\ 15'$	6,4 ccm Urin mit	71,04 mg reduzier. Substanz
$12^h\ 15'$	13,4 " " "	161,2 " " "
1^h	3,8 " " "	49,2 " " "

Die nächste Harnportion wird versehentlich nicht gesondert, sondern mit dem Harn der nächsten 4 Tage aufgefangen; darin keine Reduktion. Von dem um 1^h aufgefangenen Urin wird 1 ccm mit Hefe angesetzt; nach mehrtägigem Stehen hat sich eine geringe Menge CO_2 (kleine Blase in der Gläschenkuppe) gebildet.

Es sind also hier, und zwar schon in den ersten 3 Stunden, mehr als 80 % der intravenös eingeführten Menge im Harn wiedererschienen.

Das gleiche Resultat ergab der nächste Versuch, dem ein Versuch mit Traubenzucker parallel lief.

Kaninchen, 2100 g.

10^h katheterisiert; 10 ccm einer $3\,^0/_0$ igen Glucuronsäurelösung in eine Ohrvene.

11^h 11 ccm Harn, reduziert Fehlingsche Lösung sehr stark, nach Bang 192,5 mg.

12^h 15′ 19 ccm, reduziert Fehling deutlich; nach Bang 80 mg.

4^h 68 ccm; reduziert nicht mehr.

Kaninchen, 2100 g.

10^h katheterisiert; 10 ccm $3\,^0/_0$-iger Dextroselösung in eine Ohrvene.

11^h 5 ccm, reduziert nicht deutlich; die Titration nach Bang ergibt 6 mg in 1 ccm, also innerhalb der Fehlergrenze.

12^h 4 ccm, reduziert nicht.

4^h 36 ccm, reduziert nicht.

Auch ein Versuch am Hunde verlief ebenso: Hündin, kolpotomiert, 7000 g.

10^h katheterisiert; der entleerte Harn reduziert nicht.

20^h 10′ 0,42 g neutrale Glucuronsäurelösung (70 ccm) subcutan.

12^h 28 ccm Harn; Reduktion sehr stark; nach Bang 180 mg; Orcinreaktion deutlich.

3^h 40 ccm Harn; Reduktion stark, nach Bang 216 mg.

6^h 27 ccm; Reduktion negativ (mehrfach gemacht).

Ich habe dann noch, zur Sicherung vor Zufälligkeiten, eine Reihe von gleichartigen Versuchen (vgl. den Anhang) ausgeführt; bei allen fand ich im mindesten 70 bis $80\,^0/_0$ der eingebrachten Glucuronsäure im Harn wieder, und zwar sowohl nach subcutaner als nach intravenöser Injektion. — Selbst wenn die Versuchstiere durch Hungern kohlenhydratarm gemacht worden waren, besaß ihr Organismus doch keine Fähigkeit, die zugeführte Kohlenhydratsäure zu verwerten, z. B.:

Kaninchen, 1900 g. 24 Stunden ohne Futter. 9^h katheterisiert; 46 ccm Harn, Reduktion zuerst gleich 0, nach 24stündigem Stehen haben sich einige gelbe Körnchen Kupferoxydul abgesetzt. Das Tier erhält 25 ccm einer $0{,}85\,^0/_0$igen Lösung von genau neutralis. Na. glucuronicum in eine Ohrvene. Säuft etwas Wasser. — 11^h 55 ccm, sehr starke Reduktion, nach Bang 143 mg reduzierende Substanz. — 11^h 10′ 12,5 ccm derselben Lösung intravenös. 3^h 30′ 6 ccm Harn; 12 ccm der Lösung intravenös; 5^h 30′ 60 ccm

Harn, 12,5 ccm der Lösung intravenös. Die um 3^h 30′ und 5^h 30 entleerten Harne zusammengegossen enthalten 131,8 mg. Bis zum nächsten Tage 9^h 52 ccm Harn, enthalten 160,9 mg, die nächste Harnportion reduziert auch nach längerem Stehen nicht mehr. Es wurden demnach in diesem Versuche 527,0 mg Glucuronsäure injiziert und 435,7 mg — wiederum mehr als 80°/₀ — im Harn wiedergefunden, und das, trotzdem hier die injizierte Menge nicht auf einmal, sondern in vier Portionen eingespritzt wurde.

Gegen die Verwertung dieser Versuche als Beweis für die Unzerstörbarkeit der Glucuronsäure sind Einwände möglich. Vor allem könnte man darauf hinweisen, daß ja schon der normale Kaninchenharn reduzierende (auch Orcinreaktion gebende) Substanzen enthalte und daß diese in meinen Versuchen die Reduktion gegeben hätten. Aber, ganz abgesehen von dem Versuch am Hunde, habe ich tatsächlich nur bei einem Teil meiner Versuchstiere vor der Injektion reduzierende Substanzen im Harn gefunden, und überdies beweist die so gut wie quantitative Übereinstimmung der Reduktionsfähigkeit des Harns mit der der injizierten Lösung, daß eben diese im Harn wiedererschienen ist. Ferner habe ich, um einen gewissen Anhalt zu bekommen, inwieweit normal im Kaninchenharn vorkommende reduzierende Substanzen das Resultat beeinflussen können, noch folgenden Versuch ausgeführt.

Kaninchen, 2000 g, andauernd gefüttert. 11^h 30′ katheterisiert; nur einige Kubikzentimeter Harn zu erhalten, darin deutliche Reduktion; Injektion von 25 ccm der 0,85°/₀igen Glucuronsäurelösung intravenös. 4^h 65 ccm Harn, Reduktion sehr stark, nach Bang **231,4** mg. Intravenöse Injektion von 20 ccm der Lösung, zusammen also **382,5** mg Glucuronsäure.

Bis zum nächsten Tage 8^h 111 ccm Harn (teils spontan, teils durch Katheter erhalten) mit **386,8** mg nach Bang. Der in den nächsten 24 Stunden entleerte Harn (38 ccm) enthält nach Bang 282,0 mg reduzierende Substanz. Die Bilanz im Versuche gestaltet sich also folgendermaßen:

Injiziert **382,5** mg Glucuronsäure. Von der am Versuchstage gefundenen zusammen 618,2 mg reduzierenden Substanz sind abzuziehen 282,0 mg, die das Kaninchen auch ohne

die Injektion voraussichtlich abgeschieden hätte, es bleiben also **336,2** mg, das sind **88** % der injizierten Menge[1]).

Ein weiterer, naheliegender Einwand wäre, daß die im Harn auftretende reduzierende Substanz nicht Glucuronsäure, sondern Dextrose sei; entstehen ja doch bei Kaninchen Glucosurien sehr leicht nach Injektion selbst harmloser Lösungen, z. B. Kochsalzlösungen (Jacobj u. v. a.). Von vornherein schon wird dieser Einwand sehr unwahrscheinlich durch die beiden zuerst angeführten Versuche gemacht, in denen injiziertes Kochsalz und sogar Dextrose keine Glucosurie verursachten, wohl aber im Parallelversuch mit Glucuronsäure reduzierende Substanz auftrat. Vollkommen ausgeschlossen wird aber die Möglichkeit einer Glucosurie, wenn man in Betracht zieht, daß in meinen Versuchen fast genau soviel reduzierende Substanz aus- wie eingeführt wird. Das wäre überhaupt nur denkbar, wenn man annehmen wollte, daß aus der injizierten Glucuronsäure im Körper Glucose entstanden sei, ein Vorgang, für den es wohl kaum eine Analogie im Kohlenhydratstoffwechsel gibt, und bei dem es obendrein unerklärlich bliebe, warum die entstandene geringe Menge Traubenzucker nicht sofort verbrannt wird.

Um jedoch einem solchen Einwand jegliche Berechtigung zu entziehen, habe ich das Vorhandensein von Glucuronsäure im sezernierten Harn wenigstens qualitativ, da die quantitative Isolierung der geringen Menge nicht möglich war, sichergestellt. Ich verweise hierfür auf die Versuche 6 bis 10 (vgl. Anhang), in denen die Naphthoresorcin- und Naphtholprobe positiv, die Gärungsprobe negativ ausfiel; und vielleicht noch beweisender ist die Tatsache, daß der Harn stets, wenn darauf untersucht wurde, schon in der Kälte Fehlingsche Lösung reduzierte[2]).

Zieht man aus dem Mitgeteilten das Ergebnis, so kann dies, trotzdem ich ja meist nicht alle zugeführte Glucuronsäure, sondern nur mehr als 70 bis 80 % wiedergefunden habe[3]),

[1]) Wenn in einzelnen Versuchen (vgl. Anhang) die Bestimmung im Harn etwas mehr als die injizierte Menge ergab, so ist das Plus selbstverständlich auf die auch sonst auftretenden reduzierenden Substanzen zu beziehen.

[2]) C. Neuberg, Ergebn. d. Physiol. **1**, 387, 1904.

[3]) Ob noch andere Ausfuhrwege für die Glucuronsäure vorhanden sind, habe ich nicht untersucht; in der Galle habe ich sie nicht gefunden (vgl. Anhang, Nr. 1).

nicht anders lauten, als daß die Glucuronsäure vom Körper gar nicht angegriffen wird. Selbstverständlich entfällt hiermit die Möglichkeit, daß sie, auch nur zum Teil, der erste „normale" Abbaustein der Glucose im Stoffwechsel sei, und wir müssen in ihr ein Produkt des lebenden Organismus sehen, das er nur aus bestimmter Ursache bildet; ob man darin eine „Abwehrmaßregel" oder einen passiven Vorgang sehen will, ist schließlich nur eine Frage der Betrachtungsweise[1]). — Auch daß Oxalsäure aus Glucuronsäure im Organismus entstehe, ist nach meinen Befunden unmöglich.

Alle bisher angeführten Versuche sind mit der, wie berichtet, aus der Mentholglucuronsäure gewonnenen Glucuronsäure angestellt; nun wäre es ja möglich, daß im Körper durch Einwirkung von Substanzen, die ganz verschiedene chemische Struktur besitzen, auch strukturverschiedene Glucuronsäuren entstehen, die dann möglicherweise auch den abbauenden Kräften des Organismus gegenüber sich verschieden verhalten. Wenn wir auch chemisch bisher nur eine Glucuronsäure kennen, so gibt es doch schon einen Beweis dafür, daß wenigstens die Bildung der gepaarten Glucuronsäuren im tierischen Körper nicht immer in der gleichen Weise vor sich geht. Pohl[2]) hat gezeigt, daß unter der Einwirkung von Diaminen die Paarung des Chlorals mit Glucuronsäure gehemmt wird, die des Phenols aber nicht; Pohl schließt aus seinem Befunde, daß die beiden Synthesen nicht an demselben Orte im Körper vor sich gingen. Wenn dies nun wohl auch die wahrscheinlichste Erklärung für die merkwürdige Tatsache ist, konnte doch auch noch eine Verschiedenheit der sich bildenden Glucuronsäuren vorhanden sein. Jedenfalls schien es mir notwendig, mein Resultat mit noch einer anderweitig erzeugten Glucuronsäure nachzuprüfen; ich habe deshalb drei Versuche mit der Glucuronsäure an-

[1]) Die Glucuronsäure hat die Aldehydgruppe in ihrem Molekül, und es war deshalb möglich, wenn auch nicht wahrscheinlich, daß ihr eine gewisse Giftwirkung zukomme, etwa in der Richtung, wie es von der Glyoxylsäure bekannt ist (vgl. die Publikation von Adler, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **56**, 207). In einigen Versuchen habe ich deswegen das Verhalten der Zirkulation während und kurz nach intravenösem Einlauf von Glucuronsäure am Kymographion untersucht; das Ergebnis war negativ (vgl. Versuche 9 und 10).

[2]) J. Pohl, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **41**, 97.

gestellt, die sich nach Verfütterung von Amylenhydrat bildet[1]), von denen ich hier den einen anführe.

Kan., 2300 g, erhält 9ʰ 40′ 50 ccm der 0,5 %igen Glucuronsäurelösung subcutan (gleich 250 mg). Bis 10ʰ 40′ 29 ccm Harn, nach Bang 57,0 mg; bis 12ʰ 17 ccm mit 61,2 mg, bis 4ʰ 40 ccm, nach Bang gleich 126,0 mg, bis 7ʰ 15 ccm, die keine Reduktion, auch nach 24stündigem Stehen, geben.

Meine Resultate stehen offenkundig mit den von P. Mayer erhaltenen in Widerspruch, und ich vermag auch keinen Umstand anzugeben, der diesen Widerspruch zu erklären vermöchte. Dagegen läßt sich der Versuch Baumgartens (s. oben) wohl verstehen, auch wenn man von der Unzerstörbarkeit der Glucuronsäure ausgeht. Denn Baumgarten hat ja die Säure per os gegeben; hier sind natürlich mehrere Ursachen für das Verschwinden möglich. Erstens kann die Substanz durch die Einwirkung der Fermente und der Fäulnis im Darm zerstört werden. Dann liegt ja auch die Möglichkeit vor, daß sie schlecht resorbierbar ist, und schließlich ist natürlich nicht zu übersehen, in welcher Weise die Darmwandung, deren abbauende und synthetisierende Funktion wir ja vom Eiweiß her kennen, bei direkter Berührung auf eine derartige Säure einwirkt.

Wie oben erwähnt, sinkt bei den täglich mit 2,0 g Menthol gefütterten Kaninchen die Ausscheidung der gepaarten Säure nach nicht allzu langer Zeit. Es war nun von Interesse, nachzusehen, ob diese Erschöpfbarkeit der synthetisierenden Fähigkeit des Organismus sich nur dem bisher einwirkenden „Gift“ gegenüber zeigt oder ob auch ein anderer Glucuronsäurebildner nicht mehr zu leisten vermag. Der folgende Versuch sollte hierüber Aufschluß geben:

Kaninchen, 11 Tage mit 2,0 g Menthol + 1 ccm Alkohol (vgl. Neuberg, l. c.) gefüttert, scheidet am 11. Tage 60 ccm Harn mit 0,21 g Mentholglucuronsäure aus (polarimetrisch bestimmt). Am 12. Tage erhält es 2 g Amylenhydrat + 1 ccm Alkohol in W.; sehr bald tiefer Schlaf. Am Nachmittag ist das Tier sehr kalt; es wird deshalb in einen Thermostaten gebracht

[1]) Die Isolierung der gepaarten Glucuronsäure erfolgte nach Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 511, die Spaltung durch Kochen mit Schwefelsäure, Neutralisation mit $NaHCO_3$.

(ca. 35°). Am 13. Tage vormittags wieder munterer; durch Abdrücken werden 51 ccm Harn entleert; nach Reinigung mit Bleiacetat Drehung im 1-dcm-Rohr gleich — 2,25°. Hieraus ergibt sich nach den Angaben von Thierfelder und Mehring[1]) eine Ausscheidung von 0,57 g Amylenhydratglucuronsäure. — Wenn das nun auch etwas mehr ist, als am Vortage von Mentholglucuronsäure ausgeschieden wurde, so glaube ich doch nicht, daß man hieraus eine „Spezifizität" der Erschöpfung folgern kann; denn erstens bleibt die Menge der Amylenhydratglucuronsäure weit hinter der theoretisch möglichen zurück, zweitens aber schwankt natürlich auch die Quantität der pro Tag ausgeschiedenen Mentholglucuronsäure, so daß auf solche relativ kleinen Differenzen kein Gewicht zu legen ist.

Bei der Dauerfütterung der Kaninchen mit Menthol zeigte sich noch eine Merkwürdigkeit. Wenn die Tiere ausschließlich mit Hafer (Wasser ad libidum) gefüttert wurden, wie das für unsere Versuche an sich wegen der geringen Harnmenge vorteilhaft ist, magerten sie sehr bald ab und gingen häufig schon nach kurzer Zeit zugrunde, wenn der Hafer nicht durch gemischte Nahrung (Rüben, Semmel) ersetzt wurde. Bei dieser blieben sie leben, zeigten aber dann die geschilderte Verminderung der Mentholglucuronsäurebildung[2]). — Ob für den Unterschied die größere „Acidität" des Organismus bei Haferfütterung, die sich ja in der sauren Reaktion des Kaninchenharns kundgibt, entscheidend ist oder irgendwelche Unterschiede in der Kohlenhydratspeicheruog in Betracht kommen, habe ich noch nicht feststellen können.

War es somit sichergestellt, daß selbst kleine Mengen von Glucuronsäure im Organismus nicht zerstört werden, so lag die Frage nahe, wie sich denn andere Kohlenhydratsäuren in dieser Beziehung verhielten. Ich habe die Bearbeitung dieser Frage begonnen und möchte hier nur über zwei vorläufige Versuche mit zwei der Glucuronsäure sehr nahestehenden Säuren,

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 511.

[2]) Versuche, ob diese Verminderung durch Zufuhr von Traubenzucker oder anderen Substanzen behoben werden kann, sind im Gange; man kann von ihnen eventuell Aufschluß über die Herkunft der Glucuronsäure erhoffen.

der Gluconsäure und der Zuckersäure, berichten[1]). Auch bei diesen sind die Angaben über das Schicksal im Organismus, zumal nach parenteraler Zufuhr, in der Literatur sehr spärlich[2]). In einer Arbeit über das Vorkommen von Pentosen im Harn gibt Salkowski[3]) an, daß der Harn eines Kaninchens, das an drei aufeinander folgenden Tagen ca. 7 g gluconsaures Na erhalten hatte, keine Pentosen enthielt; da der Harn stark alkalisch reagierte und wenig Oxalsäure enthielt, „war die Gluconsäure wohl vollständig oxydiert". — P. Mayer[4]) hat Kaninchen große Mengen des Natriumsalzes oder der freien Säure injiziert (10 bis 15 g); in einem Versuche war überhaupt kein fremdartiger Bestandteil im Urin aufzufinden; „die Gluconsäure ist glatt verbrannt worden". In den drei anderen Versuchen konnte er das Hydrazid der Zuckersäure aus dem Harn isolieren; Pentosen traten in keinem Falle auf. — In Widerspruch hiermit steht, wie P. Mayer selbst hervorhebt, die Tatsache, daß, wenn er Zuckersäure selbst injizierte (10 bis 20 g), nichts davon im Harn aufzufinden war; gelegentlich tritt Glucosurie auf und die Oxalsäureausscheidung ist vermehrt; „10 g direkt eingeführter Zuckersäure werden anscheinend vollkommen oxydiert". — Den Befunden von P. Mayer wird in einer Arbeit aus der Moritzschen Klinik von E. Schott[5]) widersprochen; von größeren Mengen injizierter Zuckersäure wurde recht viel im Harn wiedergefunden, und ebenso trat Gluconsäure nach Einspritzung großer Mengen als solche, nicht als Zuckersäure im Harn auf; trotzdem hält Schott die Gluconsäure für leicht verbrennbar.

Für meine Versuche kam es naturgemäß wieder darauf

---

[1])

Glucuronsäure	Gluconsäure	Zuckersäure
CHO	COOH	COOH
|	|	|
$(CHOH)_4$	$(CHOH)_4$	$(CHOH)_4$
|	|	|
COOH	CH_2OH	COOH

[2]) L. Schwarz (Habilitationsschrift, S. 27, Prag 1903) hat gezeigt, daß nach Zufuhr von großen Mengen gluconsaurem Na per os die Acetonausscheidung von Diabetikern sinkt; es muß also ein Teil der Säure vom Organismus verbrannt worden sein.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 27, 539, Anmerkung.

[4]) l. c. S. 87.

[5]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 35.

an, festzustellen, welches Schicksal kleine parenteral zugeführte Mengen der Säuren im Organismus erleiden, und ich mußte daher auch hier darauf verzichten, die Säuren aus dem Harn zu isolieren; da sie nun Fehlingsche Lösung nicht reduzieren, war auch die bei der Glucuronsäure ausgeführte Bestimmung direkt nicht möglich. Nun gehen aber die Säuren bei Behandlung mit Natriumamalgam in saurer Lösung in reduktionskräftige Verbindungen über[1]); aus der Gluconsäure entsteht Traubenzucker, aus der Zuckersäure aber Glucuronsäure. Auch wenn man die Säuren zu Harn zusetzt, geht diese Reduktion vor sich, wie ich mich überzeugte, leider aber nicht quantitativ, sondern in ziemlich schlechter Ausbeute; so erhielt ich einmal trotz 1stündigem Behandeln mit stets erneuertem Natriumamalgam von 1 g zu Harn zugesetzter Gluconsäure nur ca. 420 mg wieder (Titration nach Bang). Die Überführung der Zuckersäure in Glucuronsäure geht quantitativ noch schlechter, war aber doch qualitativ durchaus sicher.

Die Versuche wurden an einer kolpotomierten Hündin angestellt und verliefen folgendermaßen:

Hündin, 5 kg.

10^h katheterisiert; 1 g gluconsaures Natrium (gleich 2 ccm der 50%igen Kahlbaumschen Lösung, neutralisiert und auf ca. 20 ccm mit Wasser aufgefüllt) subcutan.

12^h: durch Katheterisieren kein Urin zu erhalten.

3^h: 31 ccm durch Katheterisieren entleert, reduziert nicht, vorsichtig mit Bleiacetat versetzt, filtriert, H_2S eingeleitet, filtriert, H_2S durch Erwärmen verjagt; ca. 1 Std. lang mit kleinen Portionen Natriumamalgam reduziert, Reaktion durch kleine Mengen HCl stets sauer erhalten; filtriert, reduziert sehr stark; nach Bang enthält die Gesamtmenge ca. 140 mg Traubenzucker.

7^h: 22 ccm, wie vorher behandelt; reduziert nicht.

Dasselbe Tier erhält 2 Tage später

9^h 30′ 1 g Zuckersäure (gleich 2 ccm der 50%igen Kahlbaumschen Lösung neutralisiert, auf 25 W. aufgefüllt) subcutan.

11^h 45′ 19 ccm Harn, reduziert nicht. Nach Behandlung und Reduktion wie oben sehr deutliche Reduktion; nach Bang gleich 25 mg.

4^h 42 ccm; reduziert auch nach Behandlung nicht.

[1]) Vgl. Beilstein, Bd. I, S. 826 u. 852.

Also in beiden Versuchen war die recht kleine Menge von 1 g von einem Hunde zum mindesten teilweise nicht verbrannt worden. — Wenn man nun auch wegen der unzulänglichen Zahl der Versuche hieraus noch keinen sicheren Schluß ziehen kann, so legt das Resultat doch die Vermutung nahe, daß die Gluconsäure und wohl auch die Zuckersäure ebensowenig wie die Glucuronsäure im Körper verbraucht werden.

Zusammenfassung.

1. Parenteral — subcutan und intravenös — eingeführte Glucuronsäure wird von Hund und Kaninchen quantitativ in kurzer Zeit wieder ausgeschieden; das gilt sowohl für die nach Menthol- als für die nach Amylenhydratfütterung entstehende Glucuronsäure.

2. Selbst kleine, parenteral beigebrachte Mengen von Gluconsäure (und Zuckersäure) erscheinen zum Teil im Harn wieder; wahrscheinlich sind auch diese Säuren für den Organismus ganz unangreifbar.

3. Länger dauernde Mentholfütterung wird nur bei gemischter, nicht bei reiner Hafernahrung vertragen. — Die Produktion der gepaarten Säure sinkt bei Kaninchen nach relativ kurzer Zeit.

Anhang.

1. Kaninchen, 1800 g.

9^h katheterisiert, 25 ccm glucuronsaures Na (1,9 %ige Lösung) in eine Ohrvene.

10^h 35′ 8,2 ccm Harn mit 188,6 mg Glucuronsäure
11^h 35′ 6 „ „ „ 178,0 „ „
12^h 35′ 4 „ „ „ 62,0 „ „
3^h 30′ 2 „ „ ; keine Reduktion.

4^h Kaninchen getötet; Galle aus der Gallenblase entleert (ca. 6 ccm); mit Bleiacetat gefällt, Filtrat entbleit, reduziert nicht.

2. Kaninchen, 1700 g. 2 Tage Hunger.

9^h 30′ 25 ccm einer 2 %igen Traubenzuckerlösung in die Ohrvene.
10^h 30′ 8,2 ccm Harn; reduziert nicht.
11^h 45′ 9,8 „ „ „ „

3. Kaninchen, 1600 g. Seit 3 Tagen Hunger.

8^h 55′ katheterisiert; 50 ccm glucuronsaures Na (1,6 %ige Lösung) subcutan.

11^h 13,5 ccm mit 337,5 mg Glucuronsäure.
1^h 55 ccm; keine deutliche Reduktion; an der Bauchwand hat

sich eine erhebliche Menge Flüssigkeit angesammelt (Senkung der Injektionsflüssigkeit!).

Bis 11ʰ des nächsten Tages 66 ccm; sehr starke Reduktion; nach Bang 429 mg Glucuronsäure. — Der nächste Urin reduziert nicht.

4. Kaninchen, 2000 g.

9ʰ 10′ katheterisiert; Harn gibt ganz schwache Reduktion. Injektion von 40 ccm 0,75%iger schwach alkalischer Glucuronsäure (durch Fütterung mit Amylenhydrat erzeugt) intravenös.

10ʰ 10′ 7,5 ccm Harn mit 42 mg Glucuronsäure
12ʰ 10′ 8,1 „ „ „ 78,9 „ „
4ʰ 00′ 25 „ „ „ 189 „ „

Der bis zum nächsten Morgen entleerte Harn gibt mit Fehlingscher Lösung keine deutliche Reduktion.

5. Kaninchen, 2000 g. Hunger; am nächsten Tage 10ʰ Harn abgedrückt; Hunger; am folgenden Tage 10ʰ Harn abgepreßt gleich 44 ccm, nach Bang 107 mg reduzierte Substanz; Injektion von 0,365 Glucuronsäure (Amylenhydratharn) in ganz schwach alkalischer Lösung subcutan. Bis 4ʰ 82 ccm Harn mit 228,6 mg Glucuronsäure, bis 9ʰ des nächsten Tages 40 ccm mit 138,0 mg. Wiedergefunden 366 mg reduzierende Substanz; selbst wenn man von diesen (bei dem seit 3 Tagen hungernden Kaninchen!) die am Vortage spontan gebildeten 107 mg abzieht, bleiben immer noch mehr als 70%, die von der injizierten Glucuronsäure wieder erschienen sind.

6. Kaninchen, 1900 g.

9ʰ 30′ katheterisiert (Urin reduziert schwach), 369 mg glucuronsaures Na in eine Ohrvene.

11ʰ 15′ 15 ccm Harn. Sehr starke Reduktion, Bang gleich 241,5 mg. Naphthoresorcinprobe ungewöhnlich stark, spektroskopischer Streifen bei $\lambda = 575$.

12ʰ 45′ 7 ccm Harn, Reduktion stark, Bang gleich 85,7 mg, Naphthoresorcinprobe stark.

3ʰ 30′ 13 ccm Harn, Reduktion deutlich, Bang gleich 52 mg, Naphthoresorcinprobe deutlich, aber nicht viel stärker als gelegentlich bei normalem Kaninchenharn, sofort nach dem Ausschütteln verglichen.

Bis zum nächsten Tage 82 ccm, keine Reduktion, die gekochte Lösung trübt sich nicht einmal auch bei längerem Stehen.

Am folgenden Tage 45 ccm Harn; reduziert nicht. — Die zu diesem Versuche verwendete Lösung von glucuronsaurem Na wird durch Verdünnen auf einen Gehalt von ca. 1,2% gebracht, im Gärungsröhrchen angesetzt; nach 24stündigem Stehen im Brutschrank hat sich die Kuppe des graduierten Vergärungsröhrchens fast mit Gas gefüllt, nach der Skala noch nicht ¼%. — Der Harn von 11ʰ (erste Probe) wird auf ca. 0,8% verdünnt und vergoren; nach 24 Stunden ist die Kuppe ebenfalls fast gefüllt (ca. ¼%).

7. Kaninchen, 2000 g. Hunger.

Am nächsten Tage 9ʰ katheterisiert, Urin gibt keine Goldschmiedt-

sche Naphtholreaktion, reduziert gar nicht. 9^h 15′ Injektion von 490 mg glucuronsaures Na in eine Ohrvene.

10^h 50′ 12,5 ccm Harn; Reduktion sehr stark, sofortiges Auftreten des Goldschmiedtschen Farbenringes; nach Bang 337,5 mg.

4^h 30′ 16 ccm; Reduktion mittelstark, nach Bang 176 mg; Goldschmiedtsche Reaktion positiv, aber nur schmales violettes Band.

Bis zum nächsten Tage 8^h 30′ 42 ccm; Harn reduziert Fehling gar nicht. — Der Harn der ersten Probe (nach Bang gleich 2,7°/$_0$) wird auf etwas mehr als 1°/$_0$ gebracht (2$^1/_2$fach verdünnt) und vergoren; nach 24stündigem Gären hat sich eine Blase gebildet, die nach der Skala ca. $^1/_2$°/$_0$ entspricht; das Gemisch von Harn und Hefe wird dann filtriert; das klare Filtrat reduziert stark Fehlingsche Lösung.

8. Kaninchen, 2000 g.

10^h 30′ katheterisiert; Harn reduziert schwach; 320 mg glucuronsaures Kalium subcutan.

11^h 45′ 12 ccm Harn mit 130 mg Glucuronsäure

12^h 45′ 21 ccm Harn mit 231 mg Glucuronsäure; reduziert in der Kälte ebenso stark wie beim Erwärmen; ein Teil mit Bleiacetat vorsichtig gereinigt, gibt im 1-dcm-Rohr nur ganz schwache Rechtsdrehung, ca. 0,04°.

3^h 45′ 80 ccm, Reduktion wie bei normalem Kaninchenharn; Bang bei Verwendung von 5 ccm nicht bestimmbar.

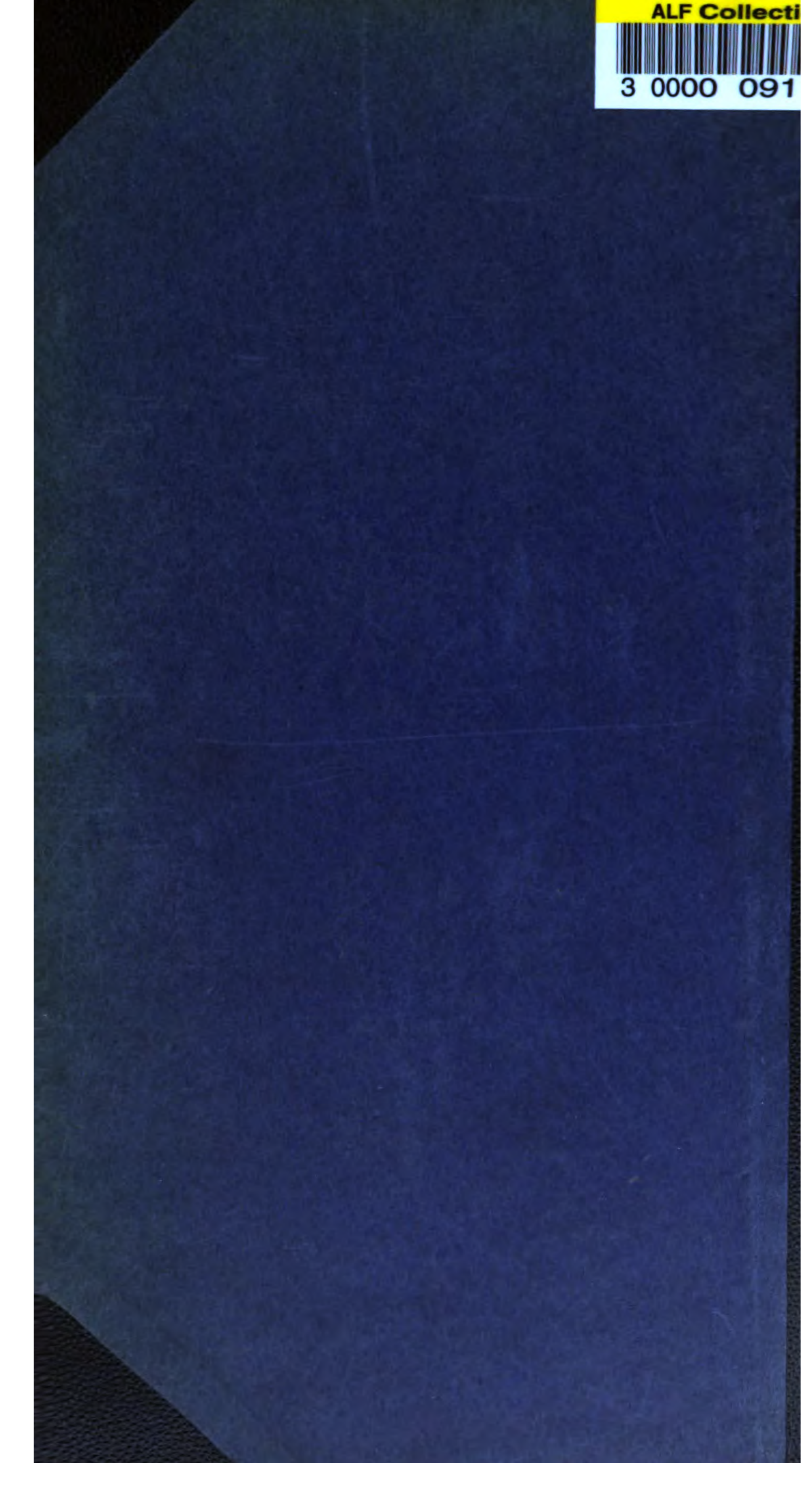
9. Kaninchen, 2000 g. Am Kymographion; 10^h langsamer Einlauf von 51 ccm glucuronsaures Na (über das basische Bleisalz gereinigt; Titer = 1,2°/$_0$) in die Vena jugularis; während des Einlaufs unregelmäßige Herzaktion (Hürthlesches Torsionsfedermanometer). — Während der Dauer des Kymographionversuches werden 71 ccm Harn entleert; reduziert stark schon in der Kälte; nach Bang gleich 528 mg; bis 4^h 24 ccm Harn, Reduktion mäßig stark, nach Bang gleich 140 mg.

10. Kaninchen, 2300 g. Einlauf von 30 ccm wie im vorhergehenden Versuch; keine deutliche Änderung am Pulse. — Harn reduziert auch in der Kälte.

Autorenverzeichnis.






ALF Collecti
3 0000 091